



**T. C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**DİYABETİK HASTALARDA SERUMDA VEGF A, ENDOTELİN-1  
VE NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Hilal KAHRAMAN  
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. Dr. Esra AYHAN TUZCU**

**HATAY – 2013**

**T. C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**DİYABETİK HASTALARDA SERUMDA VEGF A, ENDOTELİN-1  
VE NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Hilal KAHRAMAN  
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. Dr. Esra AYHAN TUZCU**

**Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)  
tarafından **9182** proje numarası ile desteklenmiştir.**

**HATAY – 2013**

# TEZ ONAY SAYFASI

T. C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ  
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**Tez Adı: DİYABETİK HASTALARDA SERUMDA VEGF A,  
ENDOTELİN-1 VE NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİNİN  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayanın Adı: Dr.Hilal KAHRAMAN**

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

.....  
Prof. Dr. Ali Özcan  
Tıp Fakültesi Dekan V.

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

.....  
Yrd. Doç. Dr. Mesut COŞKUN  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

.....  
Yrd. Doç. Dr. Esra AYHAN TUZCU  
Tez Danışmanı

**TEZ JÜRİSİ:**

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

# III. İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TABLolar LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Retina.....	3
2.1.1. Retina Embriyolojisi.....	3
2.1.2. Retina Anatomisi.....	3
2.1.2.1. Retina Pigment Epiteli.....	4
2.1.2.2 .Nörosensöriyal Retina.....	5
2.1.2.3. Nörosensöriyal Retinanın Özelleşmiş alanları.....	6
2.1.2.4.Retinanın Vasküler Yapısı.....	7
2.2. Diyabetik Retinopati.....	11
2.2.1. Epidemiyoloji.....	11
2.2.2. Patoloji.....	12
2.2.3. Diyabetik Retinopatide (DR) Sınıflandırma.....	14
2.2.3.1 Hafif-Orta Nonproliferatif DR.....	14
2.2.3.2. Orta Şiddetli Nonproliferatif DR.....	15
2.2.3.3. Proliferatif DR.....	16
2.2.4. DR’de Tedavi.....	17
2.2.4.1. Farmakolojik Tedavi.....	17
2.2.4.2. Lazer Tedavi.....	21
2.2.4.3. Cerrahi Tedavi.....	23
2.3. Nitrik Oksit.....	25

2.3.1. Nitrik Oksit Sentezi.....	25
2.3.2. NO Biyokimyasal Etkisi.....	26
2.3.3. NO ve Retina.....	28
2.3.4. Vitroretinal Proliferasyon ve NO.....	28
2.4. VEGF.....	29
2.4.1. VEGF Ekspresyonu.....	30
2.5. Endotelin.....	30
2.5.1. Endotelin İzofomları.....	31
2.5.2. Endotelin Sentez ve Salınımı.....	31
2.5.3. Endotelin Reseptörleri ve Oküler ekspresyonu.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1. İstatiksel Analiz.....	35
4. BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
7. KAYNAKLAR.....	46
8. ÖZGEÇMİŞ.....	62

## IV. TABLOLAR DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1.</b> Grupların yaş ve cinsiyet tablosu.....	36
<b>Tablo 2.</b> Gruplardaki HbA1c oranları.....	37
<b>Tablo 3.</b> Gruplardaki ortalama VEGF-A düzeyleri.....	38
<b>Tablo 4.</b> Gruplardaki VEGF-A, Endotelin ve NO düzeylerinin istatistiksel analizi.....	39
<b>Tablo 5.</b> Gruplardaki ortalama NO düzeyleri.....	40

## V. ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 1.</b> Diyabetik retinopati histopatolojisi.....	13
<b>Şekil 2.</b> Diyabete bağlı retinada gelişen patolojiler.....	14
<b>Şekil 3.</b> Diyabetik retinopatinin patofizyolojisi.....	25
<b>Şekil 4.</b> Nitrik oksitin enzimatik olarak sentezi.....	25
<b>Şekil 5.</b> NOS-2 ve NOS-3 ‘nin uyarını, NO üreten hücre.....	27
<b>Şekil 6.</b> Diyabette serbest oksijen radikallerinin oluşumunun nedenleri ve sonuçları.....	29

## VI. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>DR</b>	Diyabetik Retinopati
<b>DM</b>	Diabetes Mellitus
<b>VEGF</b>	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
<b>PDGF</b>	Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
<b>TGF</b>	Dönüştürücü Büyüme Faktörü
<b>INF <math>\alpha</math></b>	Interferon alfa
<b>NO</b>	Nitrik Oksit
<b>PDR</b>	Proliferatif Diyabetik Retinopati
<b>NPDR</b>	Non-Proliferatif Diyabetik Retinopati
<b>RPE</b>	Retina Pigment Epiteli
<b>SRV</b>	Santral Retinal Ven
<b>SRA</b>	Santral Retinal Arter
<b>ETDRS</b>	Erken Tedavi Diyabetik Retinopati Çalışma Grubu
<b>PKC</b>	Protein Kinaz C
<b>RBX</b>	Ruboksistaurin
<b>SRT</b>	Sorbinil Retinopathy Trial
<b>KNV</b>	Koroid Neovaskularizasyon
<b>NV</b>	Neovaskularizasyon
<b>DRS</b>	Diyabetik Retinopati Çalışma Grubu
<b>LK</b>	Lazer Fotokoagülasyon
<b>DRVS</b>	Diyabetik Retinopati Vitrektomi Çalışma Grubu
<b>NOS</b>	Nitrik Oksit Sentaz
<b>i-NOS</b>	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
<b>e-NOS</b>	Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
<b>n-NOS</b>	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
<b>TRD</b>	Traksiyonel Retina Dekolmanı
<b>PVR</b>	Proliferatif Vitreoretinopati
<b>TF</b>	Doku Faktörü
<b>HRE</b>	Hipoksi Yanıt Elemanı
<b>HIF</b>	Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör
<b>ET</b>	Endotelin
<b>ET-1</b>	Endotelin1
<b>MAP</b>	Mitojen Aktive Edici Faktör
<b>TG</b>	Trigliserit
<b>PCR</b>	Polimerase Chain Reaction
<b>FFA</b>	Fundus Florosein Anjiyografi
<b>DMÖ</b>	Diyabetik Maküla Ödemi



## VIII. TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde emeği geçen, her konuda bizleri destekleyip cesaretlendiren, eğitimim için her türlü desteği veren, sabır ve ilgilerini esirgemeyen başta Doç. Dr. Hüseyin ÖKSÜZ olmak üzere, Doç. Dr. Uğurcan KESKİN'e, Yard. Doç. Dr. Mesut COŞKUN'a, Yard. Doç. Dr. Nilüfer İLHAN'a, Yard. Doç. Dr. Özgür İLHAN'a, Yard. Doç. Dr. Mutlu Cihan DAĞLIOĞLU'ya,

Tezimin seçilmesi ve hazırlanmasında bana yol gösteren, asistanlık dönemimde olduğu gibi tezimin hazırlanışında da yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Yard. Doç. Dr. Esra AYHAN TUZCU'ya,

Eğitimim sürecinde birlikte yol aldığımız, büyük bir uyum içinde zevkle çalıştığımız Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda görev yapan asistan arkadaşlarım başta olmak üzere tüm asistan ve hemşire arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatıma girdiği andan bu yana bana her konuda en büyük desteği ve sabrı gösteren eşim Şamil KAHRAMAN'a; doğrudan yana, güzelden yana ne varsa en çok onların emeği olduğundan aileme; tezim hazırlanmasında destek veren bölüm hemşiremiz Gülsüm Hanım'a, desteğini hiç esirgemeyen Şule ÇELİKKAYA yürekten teşekkür ederim.

Dr. Hilal KAHRAMAN

## IX. ÖZET

**Giriş ve Amaç:** DM mikrovasküler ve makrovasküler yapıları etkileyen komplikasyonlara sahip yaygın görülen bir hastalıktır. Retina dokusunu etkileyerek diyabetik retinopati oluşumuna neden olur. Biz bu çalışmada DM'li hastalarda retinopati oluşum ve progresyonunda rol oynadığı düşünülen NO, VEGF-A, ET-1 seviyelerini değerlendirdik.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamıza 52 diyabetik retinopatisi olmayan DM hastası (grup 1), 52 nonproliferatif diyabetik retinopatisi olan DM hastası (grup 2) ve 56 proliferatif diyabetik retinopatisi olan DM hastası (grup 3) alındı. Tüm hastaların serum NO, ET-1 ve VEGF-A seviyelerine bakıldı.

**Bulgular:** Hastaların 74'ü kadın ve 86'sı erkek idi. Hastaların ortalama yaşları 57,25 idi. VEGF-A değerlerinde, Grup 1'de, grup 2'ye göre, Grup 2'de grup 3'e göre anlamlı düşük değerler bulunmuştur. Serum Endotelin düzeyleri gruplar arasında kıyaslandığında grup 1'de; grup 2 ve grup 3'e göre anlamlı düşük değerler elde edilmiştir. Serum NO düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi.

**Sonuç:** Diabetes mellitus hastalarında retinopatisi olmayan hasta grubunda, retinopatisi olan hasta gruplarına göre anlamlı düşük VEGF, ET-1 düzeylerinin saptanması, DM'li hastalarda bu parametrelerin artışının retinopatiye meyil olduğunu düşündürmektedir. Ancak ET-1 düzeyi ile diyabetik retinopatinin ciddiyeti arasındaki ilişki açık bir şekilde ortaya konulamamıştır. DR oluşumu ve ilerleyişinde serum VEGF, NO ve ET-1 düzeyi arasındaki ilişkinin daha açık bir şekilde ortaya konulabilmesi için daha fazla hasta üzerinde çalışmaların yapılması önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabetik retinopati, ET-1, NO, VEGF

## X. ABSTRACT

**Background and aim:** With macrovascular and microvascular complications of DM is a common disorder affecting structures. Affecting the retinal tissue of diabetic retinopathy is caused by the formation. In this study we evaluated NO, VEGF, ET-1 levels which are thought to play a role the formation and progression of retinopathy in diabetic patients.

**Material and method:** We included the study of 52 DM patients who have not retinopathy (group 1), 52 non-proliferative diabetic retinopathy patients (group 2) and 56 proliferative diabetic retinopathy patients (group 3). All patients, serum NO, ET-1 and VEGF levels were measured.

**Results:** 74 female and 86 were male. The mean age of the patients was 57.25. VEGF-A levels, values of Group 1 were significantly lower than Group 2 and values of Group 2 were significantly lower than Group 3 values. Serum endothelin levels compared between in these groups. Significantly lower values were detected in group 1 than group 2 and group 3. There was no significant difference between groups in serum levels of NO.

**Conclusion:** In group 1 were significantly lower than in groups 2 and 3 to VEGF, endothelin levels, determining the increase in these parameters in diabetic patients with retinopathy suggests that the propensity. However, the level of ET-1 failed to reveal a clear relationship between the severity of diabetic retinopathy. The further studies are recommended more patients in order to specify more clearly the relationship between serum VEGF, NO and ET-1 levels and the formation and progression of DR.

**Keywords:** Diabetic retinopathy, ET-1, NO, VEGF

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabetik retinopati (DR) 20-74 yaş arasında körlüğün en sık nedenlerinden birisidir (1). DR günümüzde gelişmiş ülkelerde tüm yaş grupları içinde yaşa bağlı makula dejenerasyonundan sonra ikinci, üretken çağdaki nüfus içinde ise birinci sırada körlük nedenidir. Tanının konmasından sonra 15 yıl içinde birçok hastada diyabetik retinopati proliferatif evreye ulaşmaktadır (1-5).

Retina kapillerlerinin hücresel elemanları endotel ve perisit hücreleridir. Perisitler, kapillerlerin etrafını çepeçevre sarar ve bunların damar cidarının yapısal bütünlüğünden sorumlu oldukları düşünülür. Sağlıklı bireylerde her bir endotel hücresine bir perisit hücresi düşerken, diyabetik hastalarda perisitlerin sayısında azalma olmaktadır. Perisit sayısındaki bu azalışın plazma elemanlarının retinaya sızmasına yol açacak şekilde kan-retina bariyerinin yıkılışında sorumlu olduğu düşünülmektedir (6). DR'deki ödem; retina kapilleri, arterioller ve venüllerde geçirgenlik artması sonucu meydana gelmektedir. Anjiogenezis kapillerlerden yeni damar büyümesidir ve vasküler hasar, tümör, lokal inflamasyon ve sitokinler ile proteolitik enzimleri açığa çıkaran proliferasyon, hücre migrasyonu ve yeni damar elementlerinin büyümesi ile başlatılabilir. Anjiogenezis vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) ve anjiotensin tarafından uyarılmakta, alfa interferon (INF $\alpha$ ), anjiostatin ve endostatin tarafından baskılanmaktadır (7). VEGF, proliferatif diyabetik retinopati (PDR)'nin gelişiminde önemli rolü olan bir büyüme faktörüdür ve diyabette retina perfüzyon bozukluğuna katkıda bulunur. VEGF' nin retina perisit ve endotel hücrelerinde spesifik bağlanma reseptörleri bulunur. Bu reseptörlerin inhibisyonu neovaskülarizasyonu baskılar. Deneysel olarak VEGF' ün vitreus içine verilmesi retinada iskemi ve mikroanjyopati oluşturmaktadır. Erken diyabetik retinopati evresinde VEGF sentezi artmakta, fotokoagülasyon sonrası bazal düzeye geri dönmektedir (8).

DR'nin patogenezi hala tam açıklanamamıştır. Çalışmalarda diyabetik retinopatide antioksidan savunmanın bozulduğu, serbest radikallerin arttığı ve lipit peroksidasyon ürünlerinin vasküler hasardan sorumlu olabileceği söz edilmektedir (9). Son yıllarda birçok hastalığın patogenezinde rolü olduğu kanıtlanan nitrik oksidin (NO), DR gibi proliferatif vitreoretinal hastalıklarda da rol alabileceği savunulmaktadır (9). Nitrik oksit sentaz-II enzimi tarafından oluşturulan NO'nin in vivo ve in vitro çalışmalarda sitokinler tarafından kontrol edildiği ve oluşan NO'nin lipit peroksidasyon ürünlerine dönüştüğü gösterilmiştir. Organizmada fizyolojik birçok olayda NO'nin faydalı etkileri olmakla birlikte zararlı etkileri de olabilir (9, 10). Hiperglisemi ile glikozun poliol yoluna akışı ve ileri glikolizasyon son ürünleri ile reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumu artmakta bu da protein kinaz C (PKC) yolunun fizyolojik aktivatörü olan diaçilgliserollerin oluşumuyla sonlanmaktadır. PKC aktivasyonu, kollajen ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks proteinlerinin ve Endotelin (ET), gibi vazoaaktif mediatörlerin üretiminin artması gibi bir dizi hücrel değişikliklerle sonuçlanmaktadır. Hücrel düzeydeki tüm bu değişikliklerin sonucunda bazal membran kalınlaşması, vasküler geçirgenlik ve/veya kan akımında değişiklikler olmaktadır (11). PKC VEGF'ü indüklemektedir. VEGF hücreler arası sıkı bağlantı yapılarında değişiklikler oluşturan güçlü bir sitokindir ve bu etkisi ile vasküler geçirgenliğin artmasına neden olur (11). Diyabetin retinal mikrovasküler komplikasyonlarında temel rol oynayan faktör anjiojenik ve damar geçirgenlik faktörü olan VEGF adlı moleküldür. PDR'li hastaların aköz hümör ve vitreuslarında yükselmiş VEGF düzeyleri saptanmıştır (12).

DM hastalarında retinal değişikliklerde Endotelin-1 (ET 1)'in rol oynadığını ve etkisinin hastalığın süresine göre değişiklik gösterebileceği rapor edilmiştir (13). DM oluşturulan ratlarda kontrol grubundaki ratlara göre retinada Endotelin-1'in anlamlı artışı gösterilmiştir (14). Çalışmamızda DM'lu hastalarda retinopati oluşum ve progresyonunda rol oynadığı düşünülen NO, VEGF, ET-1 seviyelerini değerlendirdik.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Retina

#### 2.1.1. Retina Embriyolojisi

Retina optik vezikülün distal bölümündeki nöral ektodermden invajinasyon sonucu gelişir. İntrauterin hayatın birinci ayında optik vezikül yüzey ektoderme yaklaşır ve lens vezikülü belirmeye başlar. Aynı anda optik vezikülün de kendi içine gömülmesi ile ikincil optik vezikül oluşur. İkincil optik vezikülün dış gömleği retina pigment epitelini (RPE), iç gömleği de retinanın diğer katlarını oluşturmaktadır (15).

#### 2.1.2 Retina Anatomisi

Retina dıştan içe doğru 10 tabakaya ayrılmıştır:

1. Retina pigment epiteli nöral retina ile koroid arasında uzanır.
2. Fotoreseptör tabaka koni ve basilleri içerir (16)
3. Dış limitan membran komşu fotoreseptörlerin yapışıklıklarından ve Müller destek hücrelerinin sitoplazmik uzantılarından oluşur, gerçek bir membran değildir. Koni ve basiller bu membranı delerek geçerler. Bol miktarda fenestrasyonları vardır. Periferik retinadaki dış limitan membran ora serrata da pigment epiteli ile birleşir (17)
4. Dış nükleer tabaka koni ve basil çekirdeklerini içerir.
5. Dış pleksiform tabaka retinanın 1.sinaptik tabakasıdır. Fotoreseptörlerin sinaptik cisimleri ile horizontal ve bipolar hücreler arası sinapsları içerir. Makula bölgesinde basil ve konilerin aksonları daha uzun ve foveada oblik

seyrettikleri için dış pleksiform tabaka daha kalın ve daha fibrözür. Bu bölgeye Henle tabakası denir. Sistemik hipertansiyon gibi durumlarda lipid ve diğer kan ürünlerinin yıldız paterninde birikmesi Henle tabakasının bu özelliği nedeniyledir.

6. İç nükleer tabaka bipolar hücreler, Müller hücreleri, horizontal ve amakrin hücrelerin nükleuslarını içerir. İç pleksiform tabaka bipolar ve amakrin hücre aksonları ile ganglion hücrelerinin dendritlerini ve bunların sinapslarını içerir.

8. Ganglion hücreleri tabakası ganglion hücrelerinin nükleuslarından oluşur.

9. Sinir lifi tabakası ganglion hücrelerinin aksonlarından oluşur.

10. İç limitan membran gerçek bir membran değildir. Müller hücrelerinin uzantıları ve bazal lamina yapışıklıklarından oluşur (17)

### **2.1.2.1 Retina Pigment Epiteli**

Nöral retina ile koroid arasında uzanan melanin içeren epitelyal tabakadır ve fotoreseptör tabaka için hayati rol oynar. RPE'nin en önemli görevleri; dış kan-retina bariyerini oluşturmak ve devamlılığını sağlamak, A vitamini metabolizmasını ve rodopsin sentezini düzenlemek, elektriksel homeostaz ile ışık absorpsiyonunu, fotoreseptörlerin dış segment fagositozunu, subretinal alandaki sıvı ve besin kontrolünü ve retina adezyonunu sağlamaktır (17, 18).

RPE tek tabakalı hegzagonal hücrelerden oluşur. Makula bölgesinde hücreler 10-14 µm çapında, uzun ince yapıda olup daha fazla melanozom içerirler. Perifere doğru gittikçe hücreler düzleşir, daha az pigment içerir ve çapları 60 mikronun üzerine çıkar. Yenidoğanda 4-6 milyon RPE hücresi vardır ve göz yüzey alanı yaşla birlikte artmasına rağmen RPE hücrelerinin sayısı göreceli olarak daha az artar. Komşu RPE hücreleri birbirlerine zonula okludens ve zonula adherens olarak adlandırılan bağlantı kompleksleri ile bağlanırlar ve bu kompleksler dış kan-retina bariyerini oluştururlar (17). Zonula okludensler su ve iyonların serbest geçişini önlemektedirler (18).

## Retina pigmentleri

**Melanin:** Melanozom adı verilen stoplazmik granüller içinde bulunurlar. Embriyolojik olarak RPE vücutta ilk pigmente olan dokudur. Melanin serbest radikal stabilizatörü olup toksinleri tutabilen ajandır. Potansiyel retinotoksik maddeleri de tutar. Melaninin optik yolların ve foveanın gelişiminde rolü olduğu düşünülmektedir (18).

**Lipofuskin:** Lipofuskin yaşlanma ile birlikte biriken bir RPE pigmentidir. Lipofuskinin RPE hücreleri tarafından alınıp sindirilen fotoreseptörlerin dış segmentleri ya da fotopik veya oksidatif hasara uğrayan membran formasyonları olabileceği düşünülmektedir (18).

### 2.1.2.2 Nörosensöryal Retina

- 1- Fotoreseptörler
- 2- Bipolar hücreler
- 3- Ganglion hücreleri
- 4- Amakrin ve horizontal hücreler
- 5- Nöronlar dışında nöroglial hücelere benzeyen destek hücreleri

#### Fotoreseptörler

Koni ve basil olarak adlandırılan 2 tip fotoreseptör vardır ve bunlar RPE ile dış limitan membran arasında yer alırlar. Her bir fotoreseptörün iç ve dış olmak üzere iki segmenti vardır. Işığa duyarlı dış segment, mukopolisakkarit matriks ile sarılmış ve RPE apikal uzantıları ile temas halindedir. Fotoreseptör hücrelerinin dış segmentleri ile RPE arasında sıkı bağlantılar ve diğer intersellüler bağlantılar yoktur. Bu iki tabakanın apozisyonundan sorumlu faktörler henüz tam anlaşılmamıştır, fakat aktif transportla ilişkili olduğu düşünülmektedir (17).

**Basiller:** Çapları 2–5 µm, boyları 100–120 µm olan, alacakaranlıkta ve gece görmeden sorumlu olan basiller foveada hiç bulunmaz ve periferde doğru sayıları hızla artar, uç periferde hafifçe azalır (19).

**Koniler:** Boyları 65–75 µm olan, kalınlıkları 5–8 µm ve foveada 1,5 µm olan silindirik şeklinde hücrelerdir. Toplam sayıları 6.3-6.8 milyon kadardır. Parlak ışıkta



görme, renkli görme ve keskin görmeden sorumludurlar. İnsan retinasındaki koniler 419 nm (mavi),531 nm (yeşil), 558 nm (kırmızı) olmak üzere üç ışık spektrumu içindeki fotonları absorbe ederler (19).

Bipolar hücreler: Radyal yerleşimli olan bu hücrelerin, dendritleri dış pleksiform tabakada koni ve basiller ile sinaps yapar, aksonları ise iç pleksiform tabakada ganglion ve amakrin hücrelerle sinaps yapar (19).

Ganglion hücreleri: Retinanın iç kısmında bulunurlar ve görme yolunun 2. nöronlarıdır. Periferden makülaya doğru ganglion tabaka sayısı artar, foveaya doğru tekrar azalır ve foveada tamamen kaybolur. Ganglion hücreleri multipolar hücrelerdir, dendritleri bipolar hücreler aksonları ve amakrin hücreler ile sinaps yapar. (19)

Amakrin ve horizontal hücreler: Horizontal hücreler basil ve konilerin terminal genişlemelerinin yakınlarında yer alan multipolar hücrelerdir, bir adet uzun ve çok sayıda kısa uzantıları retina yüzeyine paralel uzanır. Horizontal hücrelerin görme stimulusunun integrasyonunda ve horizontal iletide rol oynadıkları düşünülmektedir. Amakrin hücreler bol stoplazmalı, parçalı nukleuslu ve çok sayıda dendritleri olan aksonsuz hücrelerdir (21).

### **2.1.2.3. Nöral Retinanın Özelleşmiş Alanları**

Umbo: Makulanın tam santralindedir. Retinanın en yüksek görme keskinliğine sahip bölgesidir. Oftalmoskopik olarak fovea reflexinden sorumludur. Foveola ve umboda başlıca fotoreseptörler konilerdir (22). Konilerin en yüksek konsantrasyonu umbodadır.

Foveola: Fovea santralindeki depresyondur. Foveola merkezi optik disk santralinden 4 mm temporalde ve 0.8 mm altındadır. Retinanın en ince kısmıdır ve burada ganglion hücreleri yoktur. Foveola, Müller hücreleri, glial hücreler ve fotoreseptörleri içerir (17). Santral koni demetini çevreleyen foveola 350 µm çap ve 150 µm kalınlıktadır. Avasküler alan uzamış ve eksternal limitan membran ile bağlantılı yoğun koni paketlerini içerir. Dış segmentlerin uzaması sonucu dış limitan membran dışa doğru çıkıntı yapar, bu durum "fovea eksterna fenomeni" olarak

adlandırılır (21). Fovea makulanın merkezinde 1500 µm çapında ve 22°'lik eğimli kenarı olan bir alandır. Dış kenar kalınlığı 0,55 mm, foveola kalınlığı 0,13 mm'dir. İç limitan membran kalınlığı vitreal yapışıklık gücü ile ters orantılıdır, yapışıklıklar foveolada en güçlüdür.

Parafovea: Fovea kenarını çevreleyen 0,5 mm kalınlığında olan bölgedir ve 4–6 tabaka ganglion hücresi ve 7–11 tabaka bipolar hücre içerir. Perifovea, parafoveyayı çevreleyen 1,5 mm kalınlığında olan bölgedir. Birkaç ganglion hücre tabakası ile yaklaşık 6 bipolar hücre tabakası içerir (21).

Makula: Umbo, foveola, fovea, parafovea ve perifovea birlikte makulayı oluşturur. Makulada ganglion hücre tabakaları birkaç hücre kalınlığında iken perifer retinada sadece bir hücre kalınlığındadır. Makula sınırı; major temporal arkadlar ile belirlenir ve çapı yaklaşık 5.5 mm dir. Fovea çapı (1.5 mm) + 2 x parafovea kalınlığı (2x 0,5 mm) + 2 x perifovea kalınlığı (2x 1.5 mm) makula çapını oluşturur (5.5 mm) (21).

Perifer retina: Yakın, orta, uzak ve uç perifer olmak üzere 4 bölgeye ayrılır. Perifer retina ora serrataya yaklaştıkça inceliyor ve pars plana nonpigmente epiteli ile devam eder. Ora serrata temporalde 2.1 mm, nazalde 0.7-0.8 mm genişliğindedir. Ora serrata nazalde temporal kadranla karşılaştırıldığında daha öndedir. Nazal ora, limbusun 6 mm arkasında, temporal ora ise 7 mm arkasındadır. Ekvator ora serratanın 6–8 mm arkasındadır ve makula ekvatorun 18-20 mm arkasındadır. Ora serratadan optik sinire ortalama mesafe temporalde 32.5 mm, nazalde 27 mm ve üst ve altta 31 mmdir. Perifer retina patolojileri genellikle saat kadranına göre belirlenir. Posterior vitreus tabanı nedeniyle çoğu periferik patoloji bu segmentte olur. Ora serrata ve pars plana uç perifer olarak tanımlanır (21).

Optik disk: 1.5 mm çapında soluk pembe–beyaz renkli ve çevre retinadan daha soluk olan optik disk makulanın 3 mm medialinde bulunur. Optik sinir lifleri sklerayı delerek geçer ve bu bölge lamina kribrosa olarak tanımlanır. Göreceli olarak zayıf bir bölgedir, göz içi basıncının artması ile dışarıya protrude olabilir. Optik diskte basil ve koni yoktur, ışığa duyarsızdır ve bundan dolayı bu bölge görme alanında 'kör nokta' olarak tanımlanır (19).

#### 2.1.2.4. Retinanın Vasküler Yapısı

Retina, optik diskin yakınındaki büyük dallar dışında gerçek arter ve ven içermemektedir. Retina arterleri anatomik olarak uç-arter olup arteriovenöz anastomoz göstermemektedirler. Hem retina hem de koroid tabakalarının drenajı büyük oranda santral retinal ven (SRV) ve dalları ile olmaktadır (16).

Retina birim ağırlık başına oksijen tüketiminin yüksekliği açısından insan vücudundaki diğer dokulardan farklıdır. Bu metabolik dolaşımı sağlamak için iki ayrı dolaşım sistemi mevcuttur. Dış pleksiform ve dış nükleer tabakalar, fotoreseptörler ve pigment epitelinden oluşan retinanın 1/3 dış kısmı koroid dolaşımından, 2/3 iç kısmı ise santral retina arterinden beslenir. Bu iki sistemin anatomik ve fizyolojik ilişkileri tamamıyla farklıdır. Koroid dolaşımı daha yüksek akımlı ve değişken olup metabolitlerin koroid ve çevre dokulardaki serbest transferine izin verir. Retina dolaşımı daha düşük akımlı ancak daha sabit bir sistemdir ve daha fazla oksijen sağlar. Koroid dolaşımı hem besleyici hem de soğutucu sistem olarak görev yapar (15). Retina kan damarlarının otonom sinir sistemi innervasyonu yoktur. Özellikle CO<sub>2</sub> gibi metabolik ürünleri birikimi, pH değişiklikleri ve O<sub>2</sub> ihtiyacı retina dolaşımını etkileyebilir.

Retina intrauterin 4.aya kadar avaskülerdir. Retina damar sisteminin gelişimi, retinanın kendi gelişimini tamamlamasından sonra, intrauterin hayatın 4. ayında göz içinde mevcut olan hyaloid arterden başlamaktadır. Bu damar sistemi papilladan başlar ve vitreus içinde tek bir damar halinde lens arkasına doğru uzanır. Hyaloid arter çıkış yerinde ve arterin etrafında birikmiş bulunan hücreler, papilla etrafında ve retina içine doğru gelişen küçük damar tomurcukları papilladan periferde doğru her yönde retina içinde gelişerek retina damarlarını meydana getirirler. İntrauterin 6. ve 7. ayda arter, ven ve kapillerler derinlemesine iç nükleer tabakaya, ekvatora kadar uzanırlar. Sekizinci ayda ise damarlar ora serrataya kadar uzanır ve bu aşamada primitif kapiller ağ gelişir. Postnatal 3. ayda retina damar yapısı erişkin düzeyine erişir. Santral retina arteri (SRA) retina dolaşımı için esas kaynaktır, ancak normal gözlerin %25'inde diskin yanındaki küçük bir alan silioretinal arter tarafından beslenir (15).

## Arterler

İnternal karotid arterden ayrılan oftalmik arter, optik kanalda optik sinirin alt ve dış yanından geçerek optik siniri üstten çaprazlar, iç yana geçer ve dallanır. SRA'ı globun 8–15 mm gerisinden optik sinire penetre olur ve optik sinirin ortasından geçerek glob içine doğru uzanır (16).

SRA lamina kribrozadan geçince retina içinde dallara ayrılır ve bu dallar genellikle sinir ağına uygun dağılım gösterir. SRA lamina kribrozadan geçtikten sonra internal elastik tabaka hızla kaybolur ve kas tabakası inceliş ortadan kalkar. SRA optik sinir başında SRV' nin nazalindedir ve optik sinire SRV ile aynı düzeyde veya önünde penetre olur (16).

SRA'ın optik sinir içindeki seyri sırasında iç çapı 200 mikron, duvar kalınlığı 35 mikrondur. Diğer muskuler arterlerde olduğu gibi aterom plakları ve dev hücreli arterit, arterin sinir içindeki bölümünde kısmi veya tam tıkanma meydana getirebilirler. Ateroskleroz, arterin hem sinir içi, hem de göz içi bölümlerinde ortaya çıkabilir. Hyalinizasyon ise arterin göz içi bölümlerinde meydana gelir. İkinci darlık olan lamina kribroza bölgesi trombosit agregasyonu yönünden önemli bir bölgedir. Retina boyunca sinir lifleri tabakasında iç limitan membranın hemen altında ve genellikle venlerin üzerinde seyrederek.

Retina arterleri aralarında kapiller düzeyi dışında anastomoz bulunmayan uç arter özelliğindedir (19). Oftalmik arterin major dalları santral retinal arter, posterior silyer arterler ve göz kaslarına giden dallardır. Medial ve lateral olmak üzere iki posterior silyer arter vardır, bazen süperiyor posterior silyer arter de bulunabilir (22). Posterior silyer arterler çok sayıda kısa posterior silyer arter ve iki uzun posterior silyer arterlere ayrılır. Posterior koriokapillaris kısa posterior silyer arterlerden, anterior koriokapillaris uzun posterior silyer ve anterior silyer arterlerden beslenir. Koroid sulama alanı her bir posterior silyer arterin beslediği alanlar arası mesafe olarak tanımlanır. Koroid, vorteks venöz sistemi tarafından drene edilir. Bunlar genellikle 4–7 (ortalama 6) major damardır. Ekvator bölgesinde her alanda 1 veya 2 olarak bulunur. Vorteks venleri süperior ve inferior orbital venlere, oradan da kavernoöz sinüs ve pterygoid pleksusa drene olurlar. Süperior ve inferior orbital venler arasında genellikle kollateraller vardır (23).

Tipik olarak optik diskten çıktıktan sonra SRA, süperior ve inferior papiller dallara ayrılır, bu dallar da daha sonra temporal ve nazal dallara ayrılır. Retina arterlerinin süperior ve inferior dallara ayrılması genellikle retina boyunca devam eder. Normal retina damarları nadiren horizontal hattı geçer. Kollaterallerin orta hattı geçmesi venöz okluzif hastalığın bir bulgusudur. Major dal arterleri disk sınırını çaprazlarken yaklaşık 100 µm çapındadır. Arterler retinanın sinir lifi ve ganglion hücre tabakası içerisinde seyrederek. Genellikle birinci ayırmadan sonra elastik fibril ve internal limitan membran içermezler, bu yüzden de arteriol terimi daha uygundur. Retina arterleri ve arteriollerini iç tabakada kalır, sadece kapillerler derinleşerek iç nükleer tabakaya geçer. Retina venöz drenajı genellikle arteriyel dallanmayı takip eder. Retina venleri (başlıca venüller) iç retinada bulunurlar, bazen eşlik ettikleri arterlerin arasında bulunurlar. Arteriovenöz çaprazlama noktalarında genellikle arter veni önden çaprazlar. Çaprazlaşma bölgeleri en sık retina ven oklüzyon bölgeleri olduğu için önemlidir (23).

## Venler

Optik sinir içinde arterin temporalinde yer alan SRV'nin göz küresine giriş yerinde çapı 200 mikron ve duvar kalınlığı 35 mikrondur. Duvarı tek tabaka endotel hücresi, subendotelial bağ dokusu tabakası, media ve ince bir adventisyadan oluşur. Lamina kribrosa bölgesi tıkanmanın en sık rastlandığı bölgedir. Lamina kribrosa seviyesinde SRA ve SRV bağ dokusu ile sarılıdır ve duvarlarının bir kısmı ortaktır, her iki damar lümeni bu noktada daralır. Bu bölgedeki arter ve ven arasındaki bağ dokusunun düzensiz kalınlaşması ven üzerine bası yaparak azalmış arter akımı varlığında tromboz için gerekli türbülansı oluşturur. Optik diskte retina ve koroid dolaşimleri arasında potansiyel anastomozlar mevcuttur. SRV tıkanıklığında bu anastomozlar genişleyerek oftalmoskopik olarak görülebilen optosilyer şantlar halini alırlar. Optik sinir içindeki SRV'yi pia venleriyle birleşir ve bu bölümde daha fazla sayıda potansiyel kollateral mevcuttur. Retina periferine doğru gittikçe ven duvarındaki kas hücrelerinin yerini perisitler alır ve bunlar kas hücrelerinin kasılma özelliğini göstermediklerinden akımın yavaşladığı ya da kan viskozitesinin arttığı durumlarda venöz dolgunluğa neden olurlar (24).

Venlerin çapı eşlik ettikleri arterlerin çapından daha büyüktür ve genellikle

arterler daha yüzeyel seyrederek ve venleri üstten çaprazlama eğilimindedirler (16). Bu çaprazlaşma bölgelerinde arter ve ven tunika adventisya olarak adlandırılan ortak bir kılıf ile sarılır (24). Venler de arterler gibi perifere gittikçe daralır ve venül haline alırlar. Dallanmaları genelde ikiye ayrılma şeklinde olur. Arteriol ve venül arasında bağlantı kapillerler aracılığı ile olur (15). Retina venleri SRV'ine drene olurlar. SRV'i ise ya süperior oftalmik ven yolu ile veya direk olarak kavernoöz sinüse drene olur (16).

### Kapillerler

Arter ve ven arasında bağlantıyı sağlayan yapı kapiller damarlardır. Retinada kapillerlerin olmadığı 3 bölge mevcuttur:

- 1- Ora serratadan 1.5 mm gerisine kadar olan bölge
- 2- Fovea santralinde ortalama 0.5 mm'lik bölge (foveal avasküler zon)
- 3- Büyük arterlere ve daha az oranda venlere komşu bölgeler

Kapiller duvarı tek katlı endotel hücre tabakası, perisit ve bazal membrandan oluşur. Endotel hücreleri birbirleri ile sıkı bağlantı yaparlar. Bu sıkı bağlantı iç kan-retina bariyerini oluşturur. Endotel hücrelerinin mitoz yapma potansiyeli olduğu gösterilmiştir. Böylece vasküler hasardan sonra kan-retina bariyerinin yeniden oluşmasına yardımcı olur. Kapiller ağ afferent arteriol, efferent venül ve arada kalan kanaldan meydana gelir. Retina dolaşımında iki ayrı kapiller ağ mevcuttur. Derin kapillerler iç nükleer tabakada, yüzeyel kapillerler ise sinir lifleri ve ganglion hücre tabakaları arasında yer alırlar (16). Retina kapillerleri laminer ağ biçiminde düzenlenirler. Laminer ağ kalınlığı retina kalınlığı ile bağlantılı olarak arka kutupta 3 tabakadan periferde 1 tabakaya kadar değişir.

## 2.2. Diyabetik Retinopati (DR)

DR ve DMÖ (Diyabetik maküla ödemi), diyabet hastalarında sıkça rastlanan,

görme keskinliğinde ani ve ciddi kayıplara yol açan mikrovasküler komplikasyonlardır. DR'nin ileri evreleri iskemiye sekonder retinada anormal yeni damar oluşumuyla karakterizedir. Yeni damar oluşumuna hipoksik retina dokusundan salınan büyüme faktörleri neden olur (12). DR'nin kontrolü için hâlihazırda geçerli olan strateji bu bozuklukların erken teşhisine ve kan şekeri düzeyinin sıkı kontrolüne dayanır.

### **2.2.1.1 Epidemiyoloji**

Toplumlara göre değişmekle birlikte ortalama %1-2 sıklıkta görülmektedir (25). Diyabet hastalarının büyük çoğunluğu insüline bağımlı olmayan tip (DM tip II) olup popülasyonun %85-90'ını, diğer %10-15'ini de insüline bağımlı tip (DM tip I) olan az bir kısmı oluşturur. DM tip I'e genellikle 40 yaş altında tanı konur (26). Bu popülasyon daha ciddi oküler komplikasyon geliştirme eğilimindedir. Her ne kadar DM tip II' lü hastalar komplikasyon açısından şanslı olsalar da uzun süreli hastalık, komplikasyonu kaçınılmaz kılmaktadır. Klinik tedaviler, ciddi vizyon kayıplarını minimize etmeyi, hastaların yaşam kalitelerini korumalarını sağlamayı amaçlamaktadır.

Diyabete bağlı göz komplikasyonları gelişmiş ülkelerde körlüğün en önemli sebebi olup ölüm nedenleri içinde de 7. sırada yer alır. DM'ye bağlı retinopatinin ortaya çıkmasında en önemli faktör hastalığın süresidir. Hastalık ortaya çıktıktan 20 yıl sonra tip 1 DM'li hastaların hemen hemen tamamında, tip 2 DM'li hastaların ise %60'ından fazlasında DR bulgularına rastlanmaktadır. Günümüzde DR'nin tam anlamıyla tedavisi olmamakla birlikte, mevcut tedavi yöntemleriyle hastalarda ortaya çıkabilecek görme kayıplarının mümkün olduğunca engellenmesi ve/veya en aza indirgenmesi amaçlanmaktadır. Dünyada DM insidansı %1.5-2.5 oranında bildirilmektedir ve DM popülasyonunun yaklaşık %25'inde herhangi bir seviyede DR vardır; bunun %5'i proliferatif diyabetik retinopatidir (PDR) (27). Amerika Birleşik Devletleri'nde Framingham grubu tarafından yapılan çalışmada herhangi bir düzeyde retinopati; 5 yıldan kısa süreli diyabetiklerde %5, 5-9 yıl arasındakilerde %30, 10-14 yıl arasındakilerde %45 ve 15 yıldan uzun süreli hastalarda %62 olarak bildirilmiştir (27). Wisconsin grubunun yaptığı

epidemiyolojik çalışmada ise hastalar 30 yaş altı ve üstü diyabetikler olarak iki grupta incelenmiştir. Otuz yaş altındaki diyabetiklerde, hastalık süresi 5 yıldan az olanlarda retinopati %17, 15 yıl üstünde ise %98 bulunmuştur. Otuz yaş üstünde DM tanısı konulan grupta insülin kullanmayanlarda, 5 yıldan az diyabetik olanlarda retinopati %17-29, 15 yıl üstünde ise %50-63 olarak saptanmıştır. İnsüline bağımlı grupta 5 yıl altında retinopati oranı %40 iken, 15 yıl üstünde %85'tir (27).

### **2.2.1.2 Diyabetik Retinopati Patolojisi**

DM, insülin yokluğu veya periferik duyarsızlığı ile karakterize, hüморal ve dokusal sonuçları olan; karbonhidrat, protein, lipid metabolizma bozukluklarını da içeren bir multisistem hastalığıdır.

Diabetes mellitusun oluşturduğu oküler komplikasyonlar şu şekilde özetlenebilir:

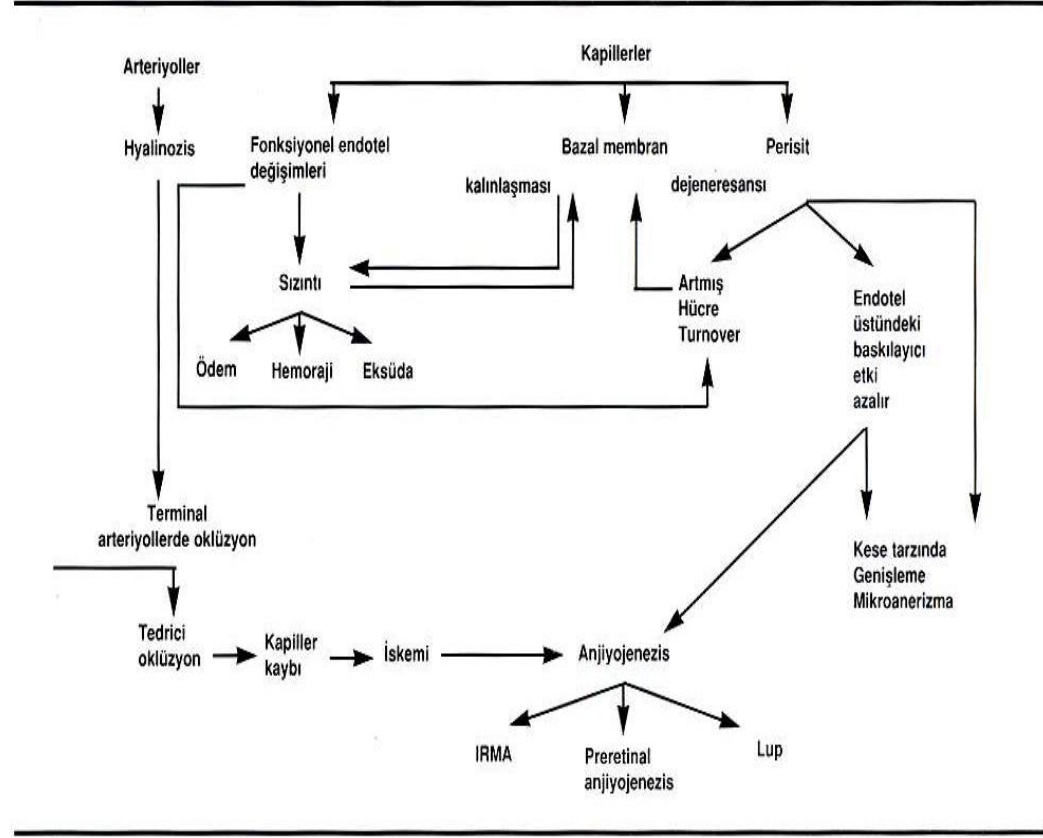
Azalmış gözyaşı üretimi; üçüncü, dördüncü, altıncı sinir paralizileri, korneada iyileşmeyen punktat epitelyopati, rubeozis iridis, katarakt oluşumu, proliferatif retinopati, optik nöropati, refraksiyon değişiklikleri, glokom insidansında artıştır (28-30).

DR'ye neden olan metabolik süreç hala tam olarak anlaşılammıştır. Aldoz redüktaz, vazoproliferatif faktörler, büyüme hormonu, trombositler ve kan viskozitesi ile retinopatıyı ilişkilendiren birkaç teori mevcuttur (31, 32).

DR histopatolojisi Tablo 1'de ve mikroanjyopati gelişiminin biyokimyasal mekanizması Tablo 2' de ayrıntılı olarak özetlenmiştir.



## Diabetik retinopatinin histopatolojisi



Şekil 1. Diyabetik retinopati histopatolojisi (33).

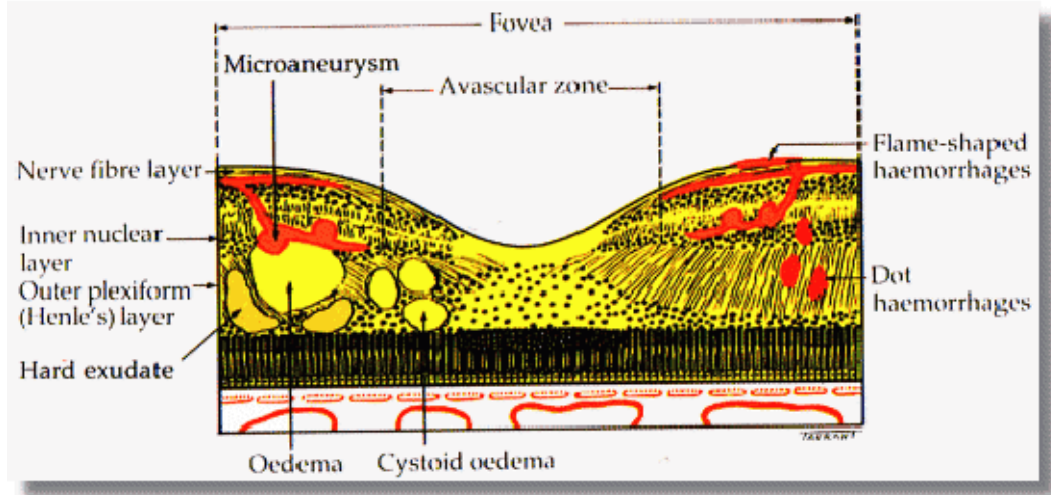
Diyabetik retinadaki metabolik anomaliler sonucunda şu histolojik değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Diyabetik retinopatinin gelişmesinde etkili olan olaylar sırasıyla şunlardır;

- 1-Kapiller endotelial bazal membran kalınlaşması
- 2-Kapiller endotel, perisit hücre hasarı ve endotelial proliferasyon
- 3-Defektif oksijen transportu
- 4-Trombosit fonksiyon bozukluğu

Bu değişiklikler ve diyabette kan viskozitesindeki artış sonucunda retinada “fokal intraretinal kapiller tıkanıklıklar” ile “vasküler permeabilite artışı ve sızıntılar” ortaya çıkar.

Vasküler permeabilite artışı ve büyüme faktör salınımı; retinal neovaskülarizasyon için zemin hazırlar (Resim 3). Diyabetik retinopatide görülen vasküler değişikliklerden sorumlu olan primer mediatörün VEGF olduğu düşünölmektedir. Klinik çalışmalarla

da PDR gelişimi ile VEGF ve reseptörü VEGFR'nin gözdeki artmış konsantrasyonu arasında bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. VEGF ayrıca diyabetik maküler ödem gelişiminde de vasküler permeabiliteyi arttırmak suretiyle anahtar rol oynar (34-37).



**Şekil 2.** DM'a bağlı retinada gelişen patolojiler

(<http://www.perreoptic.ch/optometrie/symptomes>)

### **2.2.3. Diyabetik Retinopate Sınıflandırma**

Erken Tedavi Diyabetik Retinopati Çalışma Grubu'na (ETDRS) göre diyabetik retinopatinin sınıflandırılması şöyledir (38).

1. Non-proliferatif diyabetik retinopati
  - a) Hafif-orta (background diyabetik retinopati)
  - b) Orta-şiddetli (pre-proliferatif diyabetik retinopati)
2. Proliferatif diyabetik retinopati

### **2.2.3.1. Hafif-Orta Nonproliferatif Diyabetik Retinopati**

Diyabetik retinopatide mikroanevrizmalar oftalmoskopik olarak saptanabilen ilk değişikliklerdir, orta retina katmanlarında yerleşmiş küçük kırmızı noktalar olarak görülürler. Kapiller veya mikroanevrizma duvarları zayıflayıp rüptüre olduklarında intraretinal dot- blot hemorajilere neden olurlar.

Maküler ödem; nonproliferatif diyabetik retinopatinin önemli bir belirtisidir ve diyabetik hastalarda körlük nedenlerinin başında gelir. İntersellüler sıvı; sızıntı yapan mikroanevrizmalardan veya kapillerlerden gelir. Klinik olarak maküler ödem en iyi 60 D, 78 D veya 90 D kontakt lens kullanılarak yapılan slit lamba biyomikroskopisi ile görülür. Ödem; retinal hücreler tarafından ayrılmış, çok sayıdaki retinal ara yüzeyden ışığın saçılmasına neden olur. Bu durum retinayı bulanıklaştırır. Sonuçta, dış pleksiform tabakadaki sıvı cepleri, yeteri kadar genişse, kistoid maküler ödem olarak görülebilir. Kistoid maküler ödem genellikle çok sayıda hemorajileri ve eksudaları bulunan, ciddi nonproliferatif diyabetik retinopati bulguları olan gözlerde görülür (39).

Eğer sıvı sızıntısı yeterince fazla ise, retinada lipid birikebilir. Bu durumdan ilk olarak dış pleksiform tabaka etkilenir. Bazı olgularda lipid makülada dağınık olarak yerleşirken, diğer bir grup olgularda ise sızıntı yapan veya bir kapiller nonperfüzyon alanını çevreleyen mikroanevrizmaların çevresinde bir halka şeklinde toplanabilir. Bu paterne sirsine retinopati denir (40).

### **2.2.3.2. Orta-şiddetli Nonproliferatif Diyabetik Retinopati**

Multipl retinal hemorajiler, cotton-wool spotlar, venöz boncuklanma ve luplar, intraretinal mikrovasküler anomaliler gibi iç retina tabakalarındaki hipoksinin belirtileri görülmeye başlar. Fluoresein anjiografide geniş kapiller nonperfüzyon alanları görülür.

Cotton-wool spotlar, prekapiller arteriollerin tıkanması ile oluşan sinir lifi tabakasındaki infarktlardır. Venöz boncuklanma retina kan dolaşımında yavaşlamanın önemli bir belirtisidir. Venöz luplar ise hemen her zaman kapiller nonperfüzyon alanlarının komşuluğunda yerleşirler. Lupların oluşumuna fokal vitreus traksiyonu

katkıda bulunabilir. İntraretinal mikrovasküler anomaliler, kollateral kanallar gibi fonksiyon gören dilate kapillerlerdir. Çoğunlukla retina neovaskülarizasyonlarından ayrımları güçtür (39, 41, 42).

ETDRS'ye göre; intraretinal neovasküler anomaliler, multipl retinal hemorajiler, venöz boncuklanma ve lup, kapiller nonperfüzyon, geniş kapiller nonperfüzyon alanı, fluorescein anjiografide geniş sızıntı; PDR gelişimi için önemli risk faktörleridir.

### **2.2.3.3. Proliferatif Diyabetik Retinopati**

PDR'nin başlıca belirtisi neovaskülarizasyondur. Bunlar retina ve optik diskten gelişen, retina yüzeyi veya vitreus içine doğru ilerleyen yeni damarlardır.

Neovaskülarizasyon: Non-proliferatif değişiklikler, arteriollerde nonperfüzyon ve anormal geçirgenlikle birlikte proliferatif retinopatiye dönüşür. Neovaskülarizasyon en sık orta periferik kapiller non-perfüzyon bölgesi ile bağlantılıdır ve en çok optik diskin 45 derece çevresinde, optik diskin üstünde görülür. Neovaskülarizasyon, disk üstünde veya optik diskin bir disk çapı içinde yerleşen yeni damarlardır. Retina kapillerinin tıkanıklığına bağlı olarak iç retina katlarının iskemisi sonucunda gelişir. İskemik retina dokusunun yeni damar oluşumunu stimüle eden anjiogenik bir madde salınımına yol açtığı ileri sürülmektedir. Başlangıçta endotelial proliferasyonlar olarak ortaya çıkar, daha sonra internal limitan membrandaki defektlerden geçerek retina ile posterior vitreus korteksi arasındaki potansiyel düzleme uzanırlar. Beraberinde fibröz proliferasyon bulunduğu traksiyonel retina dekolmanı gelişme riski taşırlar (41-44).

Hemoraji: Kanamalar vitreus jeli içine olduğu kadar, retrohyaloid boşluğa da olabilir. Yeni damarlar, sıklıkla arka hyaloide yapışıktır ve retina yüzeyinde veya biraz önünde yerleşmiştir. Arka vitreusa yapışık olan yeni damarlar arka vitre dekolmanında kanarlar. Bu zayıf damarlar üstündeki vitreus traksiyonu kanamalarına yol açar. Bu kan, retina ve dekolman arka hyaloid arasından akarak, retina önü veya subhyaloid kanama şeklini alır ve kayık şeklinde görülür. Arka hyaloid veya iç limitan membranın yırtılması ile kan vitreus içine girer ve zamanla rezorbe olur (44, 45).

Traksiyonel Retina Dekolmanı: Optik diskteki neovaskularizasyon veya retinanın diğer alanlarındaki neovaskularizasyon ilerledikçe, yeni damarlara karışan fibröz proliferasyon meydana gelir ve arka vitreus yüzüne yapışır. Proliferasyonun artmasıyla fibrovasküler kompleks diskten, özellikle temporal yöne doğru arkadlar boyunca ilerler; diski, üst ve alt arkadlar birleştirir. Eğer bu fibrovasküler kitle büzülürse ve en gergin vitreoretinal yapışıklıklar disk üstünde ise maküla diske doğru çekilir ve maküla dekolmanı gelişir. Fibrovasküler kitlenin proliferasyonu ve büzülmesi ile birlikte vitreus jelinin de büzülmesi, arka vitreus dekolmanda ilerlemeyle birlikte traksiyonel retina dekolmanına yol açar. Bu dekolman en sık maküla dışında görülür (44).

#### **2.2.4. Diyabetik Retinopati**

##### **Tedavisi**

Günümüz DR tedavisinde medikal ajanlara olan ilgi gittikçe artmaktadır. ETDRS çalışma grubunun sonuçlarından sonra rutin uygulama haline gelen lazer fotokoagülasyon (LK) tedavisi kar-zarar oranı göz önüne alındığında faydası çok olmakla birlikte retina üzerinde lazerin destrüktif etki yapmasından dolayı bazı istenmeyen yan etkilere de neden olabilmektedir. Bu yan etkiler maküler ödem (özellikle panretinal fotokoagülasyon sonrası), Bruch membranında rüptür ve koroidal kanama, subretinal neovaskularizasyon, görme alanında skotomlar, epiretinal membran oluşumu, vitreus hemorajisi olarak sıralanabilir (46-49). Bu nedenlerden dolayı hastayı tedavi ederken daha yüz güldürücü sonuçlar alabilmek için günümüzde medikal tedaviye verilen önem artmış ve bu alanda çalışmalar devam etmektedir. DR'de medikal tedavi uygulamalarını şu başlıklar altında toplayabiliriz:

#### 2.2.4.1 Farmakolojik tedavi

Hiperglisemi ile birlikte reaktif oksijen radikalleri ve ileri glikolizasyon son ürünleri artmakta, protein kinaz C (PKC) ve VEGF aktivasyonu olmakta, glikozun aldoz redüktaz ile sorbitole dönüşümü artmaktadır (32, 34, 50, 51). Farmakolojik tedavide de hedeflenen DR patogenezinde rolü olan bu biyokimyasal ve moleküler düzeydeki olayları belli basamaklarda durdurmaya çalışmaktır. Bu amaçla kullanılan tedavi seçenekleri şu şekilde sıralanabilir:

1. Antioksidanlar: Hiperglisemi ile birlikte mikrovasküler hasara neden olan serbest oksijen radikalleri artmaktadır. Hayvan çalışmalarında E vitamini gibi antioksidanların kullanımı ile DM'e bağlı vasküler disfonksiyonların bir miktar önlenildiği gösterilmiştir (49). DR'si olmayan veya minimal düzeyde olan hastaların dört ay boyunca yüksek doz E vitamin ile tedavisi sonucu retina kan akımı bozukluklarında anlamlı düzelmeler görülmüştür (47-49). Bununla birlikte günümüzde DR tedavisi için antioksidanların kullanımına yönelik klinik çalışmalar yoktur.

2. Aldoz redüktaz inhibitörleri: Hiperglisemi ile birlikte aldoz redüktaz enzim aktivitesi ve bunu takiben hücre içinde sorbitol konsantrasyonu artmakta, artan sorbitol ise osmotik etki yaparak hücre hasarına neden olmaktadır (46). Sorbinil bir aldoz redüktaz enzim inhibitörü olup "Sorbinil Retinopathy Trial (SRT)" çalışma grubu tarafından DR üzerine etkinliği araştırılmıştır. Sonuçta sorbinil kullanan ve plasebo kullanan kontrol grubu hastalar arasında anlamlı fark görülmemiştir. Yaklaşık olarak %7 vakada da sorbinil kullanan hastalarda hipersensivite reaksiyonları gözlenmiştir (52). Bu alandaki klinik çalışmalar halen devam etmektedir.

3. İleri glikolizasyon son ürün inhibitörleri: Hiperglisemi halinde glikoz proteinlerin yan zincirlerine bağlanarak fonksiyonu az veya fonksiyonu olmayan ürünlerin oluşmasına neden olur ve bunlar ileri glikolizasyon son ürünleri olarak adlandırılır (53). Aminoguanidin bu ürünlerin oluşmasını engelleyen bir inhibitördür ve deneysel çalışmalarda perisit kaybı ve mikroanevrizma oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (54). İnsan üzerinde yapılan çalışmalarda alınan ilk sonuçlar,

aminoguanidinin retinopati ilerleyişini yavaşlattığını ancak anemiye neden olduğunu göstermiştir (55). İleri glikolizasyon son ürün inhibitörleri için yapılan çalışmalar devam etmekte olup şu an DR tedavisinde klinik kullanıma giren ilaç yoktur.

4. PKC inhibitörleri: PKC birçok fizyolojik ve patolojik olayda rol alan bir enzim grubudur. PKC'nin alfa, beta, gama, delta, epsilon, eta, teta, xi, iota gibi birçok izoformu vardır. DR patogenezinde daha çok beta izoformu üzerinde durulmaktadır. PKC aktivasyonu ile bazal membranda kalınlaşma, vasküler geçirgenlik ve/veya kan akımında değişiklik olmaktadır. Ruboksistaurin (RBX, LY333531) PKC beta izoenzimine selektif inhibisyon yapan bir ajandır. RBX ile yapılan hayvan çalışmalarında DM'e bağlı retinopati, nefropati ve nöropati gibi komplikasyonlara karşı faydalı etkisi olduğu gösterilmiştir. İnsanlar üzerinde yapılan faz 1 klinik çalışmalarda da iyi tolere edildiği ve DM'ye bağlı retina kan akımı bozukluklarında düzelmeye sağladığı bildirilmiştir (56). Ruboksistaurinin faz 3 klinik çalışmaları da tamamlanmış olup onay için FDA'ya başvurusu yapılmıştır. Onay alması durumunda DR medikal tedavisi için ruboksistaurinin oral formu satışa sunulacaktır. PKC412 ise nonspesifik PKC inhibitörü olup hayvan çalışmalarında retinal ve koroidal neovaskularizasyonu önlemede etkili olduğu bulunmuştur (57). "Campochiaro PA; C99-PKC412-003 Study Group" 141 nonproliferatif diyabetik retinopatide (NPDR) hastası üzerinde yaptığı çok merkezli, çift kör, randomize, plasebo kontrollü çalışmada 100 ve 150 mg günlük oral PKC412 kullananlarda anlamlı olarak diyabetik maküler ödemin gerilediğini ve görme keskinliğinin arttığını bildirmiştir. Aynı yayında oral PKC412 kullanımının potansiyel bir karaciğer toksisitesi olduğu da belirtilmektedir (58). PKC412 için yapılan klinik çalışmalar devam etmektedir.

5. Antianjiyojenik Tedavi: Antianjiyojenikler, DMO'de vasküler permeabilityyi azaltarak etkili olmaktadır. Bu grup ilaçlar intravitreal enjeksiyon olarak uygulanmaktadır; başlıca 3 ilaç bulunmaktadır: pegaptanib, ranibizumab ve bevacizumab (59-61). Pegaptanib (Macugen; Eyetech / Pfizer) bir vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) aptameridir, VEGF-165'i bloke etmektedir. Randomize, sham kontrollü bir çalışmada DMO olan hastalara birinci yıl 0,3 mg pegaptanib veya sham 6 haftada bir (toplam 9 enjeksiyon) yapılmış, 18. haftadan itibaren ilave lazer tedavisi uygulanmıştır. İkinci yılda gerektiğinde 6 haftada bir intravitreal enjeksiyon

tekrarlanmıştır. Sonuçta görme keskinliği sham grubuna göre tüm kontrol haftalarında anlamlı olarak daha iyi bulunmuştur. Pegaptanib grubunda fokal lazer tedavisi ihtiyacı da daha düşük olmuştur (62). Bevacizumab (Avastin, Altuzan; Genentech), bir anti VEGF antikorudur, Faz III çalışması olmamasına rağmen tüm dünyada “off label” olarak kullanılmaktadır. Scott ve arkadaşları DMO’de bevacizumabın kısa dönemde etkili olduğunu göstermişlerdir (63). En geniş retrospektif serilerden biri 6 ülkeden 6 merkezin dahil olduğu 1,25 veya 2,5 mg intravitreal bevacizumab enjeksiyonunun yapıldığı ve hastaların 6 aylık takip sonuçlarının bildirildiği bir çalışmadır (64). Hastalara tek doz, iki doz veya üç doz intravitreal bevacizumab enjeksiyonu uygulanmış, kısa dönem sonuçları etkin olarak bildirilmiştir. Daha sonra aynı grubun diffüz maküla ödemi için bildirdiği 24 aylık sonuçlara göre ortalama enjeksiyon sayısı 5,8 görme keskinliği, OKT ve FFA (Fundus Florosein Anjiyografi) sonuçları stabil veya iyileşmiş olarak bulunmuştur. Yine bu çalışmaya göre 1,25 veya 2,5 mg dozları arasında farklılık bulunmamıştır (65). Ranibizumab (Lucentis; Genentech / Novartis) anti VEGF antikorunun Fab parçasından oluşmaktadır, VEGF-A’nın tüm izoformlarını ve yıkım ürünlerini bloke etmektedir. DMO’lu hastalarda intravitreal ranibizumab enjeksiyonunun uzun dönem (2 yıl) sonuçlarının araştırıldığı READ-2 çalışmasında, ranibizumab monoterapinin görme keskinliği artışı ve santral maküla kalınlığı azalması konusunda başarılı olduğu ancak lazer (fokal/grid) kombinasyonu ile enjeksiyon sıklığının azaltılabileceği bildirilmiştir (66). Sonuçları merakla beklenen RESTORE çalışmasında ranibizumab monoterapi, lazer monoterapi ve kombine ranibizumab + lazer tedavileri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada toplam 345 hastanın 12 aylık sonuçları değerlendirilmiş ve görme keskinliği açısından en başarılı tedavi kollarının ranibizumab monoterapi ve buna yakın olarak ranibizumab+lazer kombine tedavisi olduğu bildirilmiştir (67). Antianjiyojenik tedavi sonrasında nadir de olsa lokal ve sistemik komplikasyonlar bildirilmiştir. Oküler komplikasyonlardan endoftalminin görülme sıklığı %0,07’dir. Diğer ciddi oküler komplikasyonlar nonenfeksiyöz enflamasyon (%0,05), regmatojen retina dekolmanı (%0,08), vitreus içi hemoraji ve katarakttır (68). Sistemik yan etki olarak ani kan basıncı yükselmesi, iskemik koroner arter hastalığı, serebrovasküler olay, periferik tromboemboli görülebilir (69).

6. İntravitreal kortikosteroid enjeksiyonu: Kortikosteroidler vasküler geçirgenliği azaltmaları, antiinflamatuvar ve antiproliferatif etkilerinden dolayı tıpta



geniş kullanım alanı bulmuşlardır. Çeşitli göz hastalıklarında topikal, sistemik ve perioküler enjeksiyonlar şeklinde steroidler yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Özellikle diyabetik maküler ödem tedavisinde İVTA enjeksiyonu ile yapılan çalışmalar incelendiğinde ortalama olarak 3-6 ayda nükslerden bahsedilmekte ve bu durum triamsinolon asetonidin vitreustan eliminasyonu ile ilişkilendirilmektedir.

Tekrarlanan enjeksiyonlarla olumlu sonuçların sağlanması bu doğrulamaktadır (70). İntravitreal uygulamanın etkinliğini artırmak için günümüzde vitreusta daha uzun süre kortikosteroid konsantrasyonları sağlayacak implantlar üzerinde çalışılmaktadır. Bu alanda en büyük gelişme intravitreal flusinolol asetonid implantlarında olmuştur. İntravitreal flusinolol implantlarının kronik noninfeksiyöz arka segment üveitlerinde 3 yıla kadar etkinliği gösterilmiş olup bu endikasyonda kullanılması Nisan 2005'te FDA tarafından onay almıştır (71). Diyabetik maküler ödem tedavisinde kullanılmak üzere intravitreal deksametazon ve triamsinolon asetonid implantları üzerine de çalışmalar devam etmektedir. Bu konuda en çok kabul gören ve uygulanan implant OzurdexR (Allergan Inc. Irvine, CA, USA) dir. FDA tarafından retina ven tıkanıklıklarına bağlı maküla ödemi ve noninfeksiyöz üveitler için onay almış olan bu implant 700 µg deksametazon içermektedir. Özel bir aplikatör ile vitreye enjekte edilir; sütür gerektirmez. Etken maddenin implanttan difüzyon ile salınımı bifaziktir, 6. haftaya kadar yüksek dozlarda, daha sonra 6. aya kadar daha düşük dozlarda devam etmektedir. Biyo-uyumlu ve biyo-çözünürlük özelliğe sahip olup göz içerisinde CO<sub>2</sub> ve suya metabolize olmaktadır. DMÖ'nde yapılan klinik çalışmaların sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı görme artışı ve santral retina kalınlığında azalma tespit edilmiştir (72). Özellikle tedavide en zor ve dirençli grubu oluşturan vitrektomize gözlerde yapılan bir çalışmada Ozurdex'in etkili olduğu bildirilmiştir. Yerleştirilmesinden sonra 8-13. haftalarda etkisinin en üst noktaya çıktığı gözlemlenmiştir. İzlenen en büyük yan etki 60. günde pik yapan ve 180. günde başlangıç değerlere dönen GİB artışıdır (73). Medikal tedavide olan gelişmeler ile DR'e bağlı olan körlükler azaltılabileceği gibi daha destrüktif tedavi yöntemleri olan LK'u vitreoretinal cerrahinin uygulanacağı hasta sayısı da azalacaktır.

#### 2.2.4.2. Lazer tedavisi

LK'nun tam etki mekanizması bilinmemekle birlikte, bir teoriye göre lazerin oksijen tüketen fotoreseptörlerde oluşturduğu hasarın rol oynadığı düşünülmektedir. LK sırasında doku ısısında meydana gelen 10 derecelik artış retina pigment epiteli (RPE), fotoreseptörler ve koryokapillaris yayılarak hücre ölümü ve skatrizasyon geliştirmektedir. Koryokapillaristen retina dış tabakalarına diffüze olan oksijen, lazer skarı yoluyla iç retinaya diffüze olmakta ve iç retina hipoksisini azaltmaktadır (74). Başka bir çalışmada DMÖ'lü gözlerde yapılan maküla lazeri önce ve sonrasında arteriol ve venül dallarının çapları ölçülmüş, arteriol dallarında çok anlamlı bir daralma tespit edilmiştir. Bunun sonucunda yazarlar lazer tedavisi sonrasında artmış retina oksijenasyonunun otoregülatuar vazokonstriksiyona yol açarak DMÖ'ni azalttığını ileri sürmüşlerdir (75). Bir diğer teori ise RPE'nin oluşan hasara verdiği yanıtıdır. LK'nun etkisi ile RPE ve endotel hücrelerinde proliferasyon olur, kan-retina bariyeri tamir edilir (76, 77). DMÖ'nde fotokoagülasyon tedavisinin faydalı olduğunu bildiren çok sayıda çalışma mevcuttur. Ancak bunların en önemlisi bugün uyguladığımız standart fokal fotokoagülasyon rehberini oluşturan prospektif, randomize ve çok merkezli ETDRS çalışmasıdır (78). ETDRS hafif ve orta derecede NPDR sızdıran mikroanevrizmaların direkt tedavisini, diffüz maküla ödemi ve nonperfüze kalın retinada "grid tedavisi"ni, şiddetli NPDR ve proliferatif diyabetik retinopatide (PDR) ise kombine "scatter" ve fokal lazer tedavisini önermektedir. ETDRS'ye göre maküla ödemi bulunan gözlerde orta derecede görme kaybını önlemede en uygun strateji, hafif retinopati mevcudiyetinde acil fokal fotokoagülasyon ve daha ağır retinopati geliştiğinde ise geç "scatter" fotokoagülasyon uygulamaktır. Grid patternde spotlar makülanın üst, alt ve temporaline uygulanır; maküla merkezine 500 mikron yakınlıkta ve disk çevresindeki 500 mikronluk alana grid tedavisi uygulanmaz. Diffüz DMÖ'nde anatomik ve fonksiyonel başarı düşüktür; tekrarlayan tedaviler sonrasında bile diffüz ödem refrakter olabilmektedir. Literatürdeki grid lazer uygulaması ile ilgili ve takip süresi en uzun çalışmalardan birinde, 3 yıllık takip sonunda %15 olguda hafif görme artışı olduğu, %61 olguda görme seviyesinin aynı kaldığı ve %24 olguda orta derecede görme kaybı olduğu bildirilmiştir (79, 80). LK'nun diyabetik retinopati ve DMÖ'nin tedavisindeki rolü büyük ve tartışılmazdır ancak komplikasyonlar da karşımıza çıkabilmektedir. Bu

komplasyonlar kollateral hasarı, skar genişlemesi, fokal lokalize skotom, renk görmede bozukluk, RPE ve fotoreseptörlerde kalıcı hasar, koroid neovaskularizasyonu (KNV) ve RPE fibroz metaplazisi şeklindedir (81, 82). Son yıllarda yan etkileri azaltmak bakımından eşik altı mikropulse diod LK'ı geliştirilmiştir. Bu lazer, RPE'nin apikal kısmı hedeflenecek şekilde çok sayıda kısa süreli yanıklar oluşturmak üzere tasarlanmıştır. Atım süresi 0.1 milisaniyedir. Selektif olarak RPE hasarı yapmakta, fotoreseptörler ve koryokapillaris etkilenmemektedir. Kızılötesi tedavi ışığı görünmediğinden ve ağrısız olduğu için hastalar açısından konforludur. Genişleyecek veya iyatrojenik KNV oluşma riskini arttıracak bir koryoretinal skar gelişmemektedir (83-86). ETDRS protokolü ile eşik altı mikropulse diod lazerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, iki grup arasında görme keskinliği artışı ve santral retina kalınlığı azalmasında anlamlı bir fark bulunmasa da ortalama santral 4 ve 12 derecelik retina hassasiyetinde eşik altı mikropuls diod lazer grubunda artma ve ETDRS grubunda azalma tespit edilmiştir (87). Günümüzde maküla grid LK'da yeni teknolojik ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu teknolojik gelişmelerden bir tanesi Pascal fundus fotokoagulatoru ile yapılan maküla grid pattern fotokoagülasyonudur (88). Bir diğeri ise FFA görüntüsü üzerinden navigasyonla yapılan grid lazer fotokoagülasyonudur (89).

**Yüksek Riskli Hastalarda LK Tedavisi:** PDR evresinin ilerlemesinde yüksek riskli hastalar, vitreus veya preretinal hemoraji, optik diskte neovaskularizasyon (NV), retinada 1/2 disk çapında NV veya iriste neovaskularizasyon bulunan hastalardır. Diyabetik Retinopati Çalışma Grubu'nun (DRS) (26, 90) verilerine göre PDR oluşan hastalar 5 yıl içinde görmelerini %50 oranında kaybetmektedirler. LK tedavisi, yüksek riskli hastaların %62'sinde yeni damar oluşumunu engeller ve geriletir. Bu çalışmada, kontrol grubunda %26 ciddi görme kaybı saptanırken bu oran LK tedavi uygulanan hasta grubunda %11'e düşmüştür (26, 90). Bu çalışmanın sonucuna göre yüksek riskli hastalar zaman kaybetmeden panretinal LK tedavisi uygulanmalıdır. LK ciddi görme kaybı riskini %50 azaltmaktadır.

**Düşük Riskli PDR ve Ağır-Nonproliferatif DR'de LK Tedavisi:** Erken Tedavi Diyabetik Retinopati Çalışma Grubu'nun (ETDRS) sonuçları düşük riskli PDR ve proliferatif olmayan DR hastalarının sorunlarına cevap getirmiştir (91-93). Ağır nonproliferatif DR hastalarında 5 yıl sonunda ciddi görme kaybı, kontrol grubunda %10 iken, panretinal LK tedavi grubunda %6'ya düşmüştür. Ancak tedavi

olan grubun %10'unda panretinal LK'a bağlı oluşan maküla ödemi nedeni ile görme azalmaktadır. Ağır nonproliferatif DR'li hastalardan takip edilen grupta vitrektomi oranı %10.3 iken, LK tedavisi uygulanan grupta bu oran %6.4'e düşmüştür. Ağır proliferatif DR'li hastalarda DR'nin bir yıl içinde ilerleme olasılığı %50 oranındadır (91, 93). Tip II diyabetik hastalarda LK'nun koruyucu etkisi daha belirgindir. Tip II diyabetik hastalarda kontrol grubunda %13, tedavi grubunda ise %5, oranında vitrektomi gerekmiştir (91).

#### Yüksek Risk Oluşmadan LK Tedavisi Önerilen Hasta Grupları

##### 1. Oküler faktörler

- Ağır veya çok ağır nonproliferatif olgular,
- Neovaskülarizasyonları aktif olan gözler,
- Optik diskte 1/3'den küçük neovaskülarizasyonu olan olgular,
- Retinopatisi hızlı ilerleyen hastalar,
- Diğer gözünü DR nedeniyle kaybetmiş ağır nonproliferatif DR'li olgular,
- Katarakt ameliyatı planlanan ağır nonproliferatif DR'li olgular.

##### 2. Sistemik Faktörler

- Tip 2 diabet,
- Hamilelik,
- Renal hastalık,
- Kontrollere zamanında gelemeyecek hastalar.

Bu tip olgularda erken LK yapılmayacaksa çok sıkı takip yapılmalıdır.

#### **2.2.4.3. Cerrahi tedavi**

LK tedavisi yapılmayan PDR'li hastalar %50, LK tedavisi yapılan proliferatif olmayan DR li hastalar %5 oranında beş yıl sonra görmelerini kaybederler. Erken LK yasal körlüğü %90 oranında önler. LK tedavisi zamanında yapılmayan hastalar veya LK tedavisine yanıt vermeyen hastalara PPV uygulanabilir.

PDR'li hastalarda PPV endikasyonları:

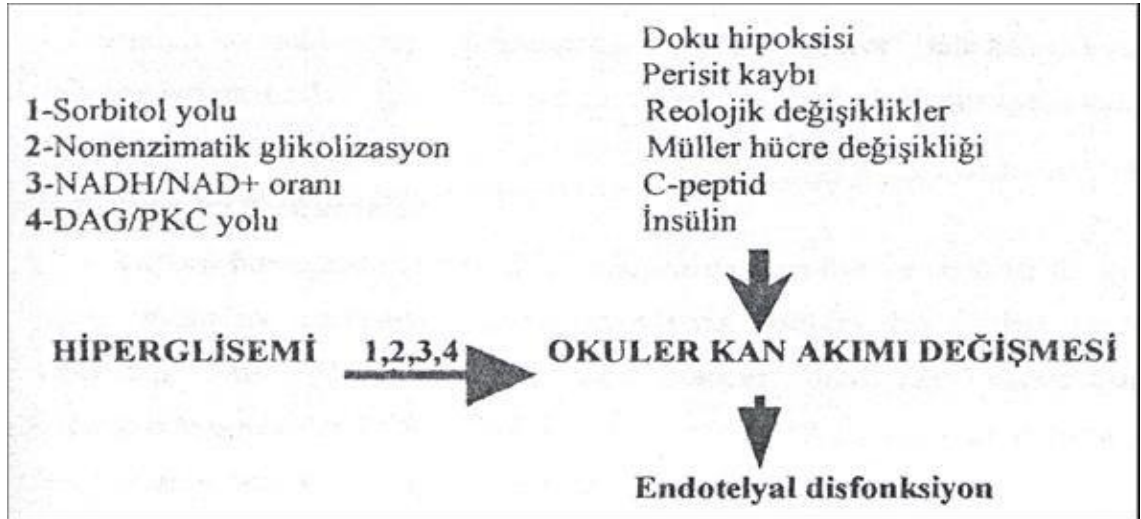
- Vitreus hemorajisi,
- Traksiyonel retina dekolmanı,
- Yırtıklı+Traksiyonel retina dekolmanı,
- Hızlı ilerliyen PDR,
- Yoğun premaküler hemoraji,
- Hayalet hücre glokumu,
- Ön segment NV ile beraber optik ortam bulanıklığıdır.

İlk vitrektomi 1970 yılında Machemer tarafından temizlenmeyen vitreus hemorajili hastaya yapılmıştır (94). Başlangıçta diyabetik vitrektomilerin %70'ini vitreus hemorajili hastalar oluşturmaktaydı. Günümüzde ise bu oran yaklaşık olarak %30'a düşmüştür. Vitreus hemorajilerinde vitrektomiye inceleyen ilk çok merkezli çalışma Diyabetik Retinopati Vitrektomi Çalışma (DRVS) Grubu'nun araştırması olmuştur (95-97). Vitrektomi sırasında endolazer FK uygulanmadan yapılmış bu çalışmada erken vitrektomi ile %25, geç vitrektomi ile ise %15 oranında 10/20 ve daha iyi sonuç görme elde edilmiştir. DRVS sonuçları irdelendiğinde, Tip I DM'li olgularda vitrektominin yararlı etkisinin Tip II DM'li olgulara kıyasla daha belirgin olduğu görülür. Bu bilgiler ışığında DRVS sonuçlarına göre vitreus hemorajisinin resorpsiyonu için Tip I DM'li olgularda en fazla 3 ay, Tip II DM'li olgularda ise en fazla 6 ay beklenilmesi önerilmiştir (95-97). Ancak günümüzde vitreoretinal cerrahi teknikler 20 yıl öncesine göre çok ilerlemiştir. Traksiyonel retina dekolmanı olmayan temizlenmeyen vitreus hemorajileri Tip I diyabetik olgularda yaklaşık bir ay sonra, Tip II diyabetik olgularda ise yaklaşık 2-3 ay sonra operasyona alınmaktadır. Günümüzde vitrektomiye giden hastaların yaklaşık olarak %70'ini traksiyonel retina dekolmanlı (TRD) hastalar oluşturmaktadır. Diyabetik Retinopati Çalışma Grubu'nun verilerine göre vitrektomi için klasik endikasyon makülayı tutan TRD'dir. Bir yıl içinde maküla tutulum oranı %15 iken, 2 yıl içinde bu oran %23'e çıkmaktadır. İkinci bir klasik vitrektomi endikasyonu ise traksiyonel ve yırtıklı retina dekolmanlarıdır. Günümüzde modern VRC teknikleri ile endikasyonlar genişlemiş ve makülanın tehdit altında olması, maküla distorsiyonu, maküla ektopisi veya vitreopapiller traksiyon olması da vitrektomi endikasyonları arasına girmiştir. Cerrahide amaç arka hiyaloidi ayırıp vitreoretinal yapışıklıkları ortadan kaldırmaktır.

Vitreoretinal yapışıklıkların ameliyat öncesi belirlenmesi, operasyon stratejisini, prognozu ve postoperatif komplikasyonların belirlenmesine olanak sağlar. Son yıllarda özellikle sıkı ve geniş alanda vitreoretinal yapışıklığı veya DTRD'si bulunan ve intraoperatif kanama riski yüksek, aktif fibrovasküler proliferasyonu olan gözlerde vitrektomiden 3-7 gün önce intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu aktif yeni damarlarda gerileme sağlamakta, cerrahiyi kolaylaştırmakta ve cerrahi sırasındaki kanama riskini azaltmaktadır (98).

### 2.3. Nitrik Oksit

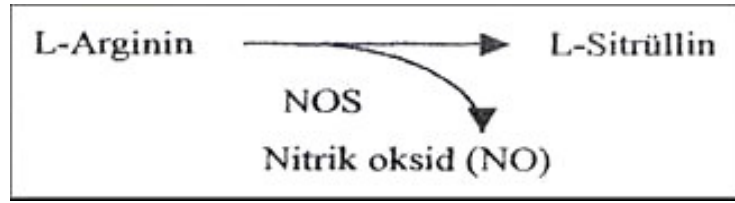
NO, vasküler endotelde L-argininden sentezlenen güçlü bir vasodilatör ajandır. Bazı hayvan ve insan çalışmalarında endotel kaynaklı NO, koroidin kan dolaşımında gerekli bulunmuştur. İn vitro olarak çalışılmış birçok araştırma NO'nun retina damar tonüsünü kontrol ettiğini göstermektedir. Diyabetik ratlarda yapılan çalışmada retinada artmış Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzim aktivitesi gözlenmiştir (8).



Şekil 3. Diyabetik retinopati patogenezi

### 2.3.1. Nitrik Oksit Sentezi

NO, L-argininin L-sitrülline dönüşmesi sırasında ortaya çıkar. Bu enzimatik yolu NOS kontrol eder. Diğer nörotransmitterler gibi NO konvansiyonel regülatör mekanizmalarla salgılanmaz ve depolanmaz, bu nedenle NO biyosentezinin kontrolü önem taşımaktadır (99).



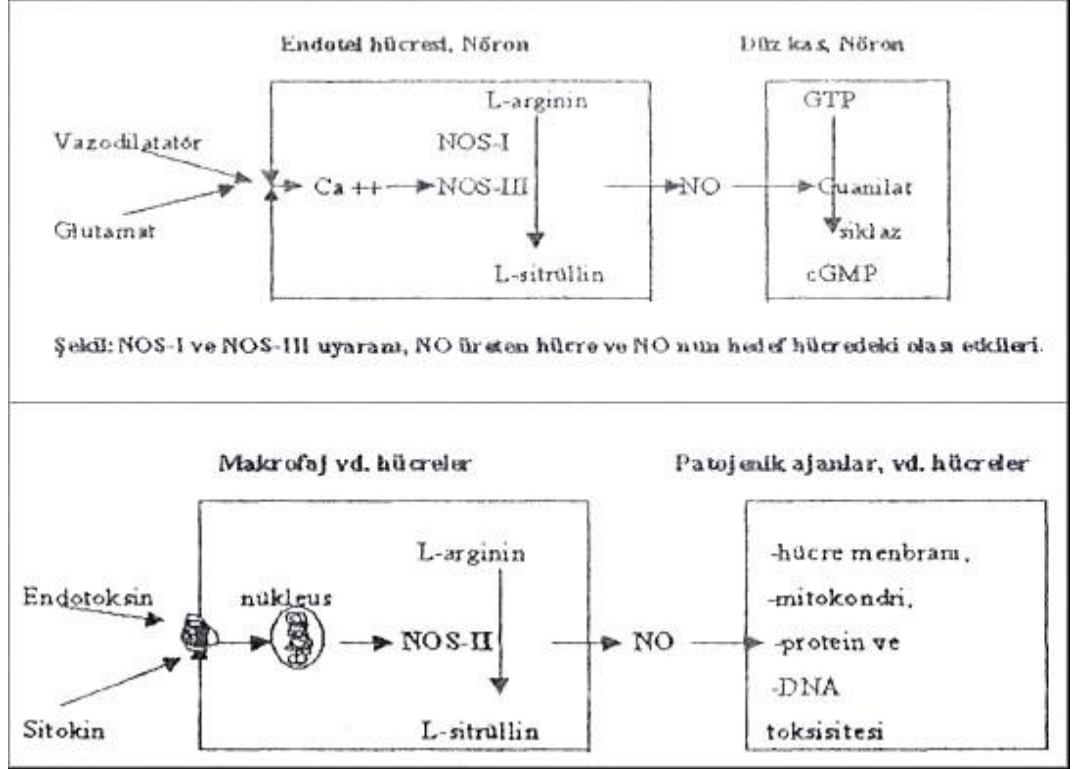
Şekil 4. Nitrik oksidin enzimatik olarak sentezlenmesi.

NO sentezi yapan üç tür NOS izoenzimi vardır. İki NOS izoenzimi dokularda devamlı olarak bulunmakta ve yapısal (konstitütif) NOS olarak adlandırılmaktadır. İlk NOS izoenzimi NOS-I adını alır, temel olarak periferik ve santral sinir sisteminin bazı nöronlarında bulunur; bu nedenle nöronal NÖS (nNOS) olarak da adlandırılır. İkinci NOS izoenzimi NOS-III adını almakta ve temel olarak vasküler endotelde bulunmaktadır; bu nedenle endotelial-NOS (eNOS) olarak adlandırılır. Nitrik oksidin az bir kısmı bu iki NOS izoenzimi tarafından oluşturulur ve biyolojik ortamda çok kısa bir sürede yıkılır. Üçüncü izoenzim olan NOS-II, immünolojik ya da bir uyarı sonucu spesifik olmayarak bir çok hücreden sentezlenebilir; bu nedenle uyarılabilir (incudible) NOS (iNOS) adını alır. Biyolojik ortamlarda sentezlenen total NO miktarının büyük kısmı da iNOS izoenzimi tarafından açığa çıkmaktadır. Diyabetik retinadaki total NO miktarının çoğunun iNOS tarafından sentezlendiği bildiriliyor (99-101).

### 2.3.2. Nitrik Oksidin Biyokimyasal Etkisi

Biyolojik sistemlerde NO oksijen, superoksit anyon ve geçiş metalleri ile reaksiyona girerek nitrit ve nitrat, peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>) ve metal-nitrik oksit bileşiği

oluşur. Nitrik oksit, tiol grubu ile reaksiyona girerek nitroz ( $\text{NO}^+$ ) ürüne dönüşebilir (102).



**Şekil 5.** NOS-II ve III'nin uyarıları, NO üreten hücre ve NO'nun hedef hücredeki olası etkileri

NO'nun fizyolojik miktarı NOS-I ve NOS-III izoformları ile ortaya çıkar, bu fizyolojik konsantrasyon nöral sistemde ve kardiovasküler sistemde sinyal iletiminde görev alır. Buna rağmen NOS-II ile oluşan NO sitotoksik/sitostatik etkiye katkıda bulunur.

#### Gözde Nitrik Oksit Sentaz Izoenzimlerinin Lokalizasyonu

##### Yapısal NOS (NOS-I ve NOS-III)

NOS aktivitesi retinada ve izole edilmiş rod dış segmentinde gösterilmiştir. NOS-I izoenziminin amakrin hücrelerde, retinanın iç nükleer tabakasında ve fotoreseptörlerde varlığı gösterilmiştir. NOS-III izoenzimi, NADPH-diaforaz boyama yöntemi ile ön segment vasküler endoteli, koroid ve retinada tespit edilmiştir. Siliyer kas, trabeküler ağ ve Schlemm kanalında NOS-III için fazla miktarda NADPH-diaforaz boyanması tespit edilmiştir (103). Tablo 4 ve 5'te gözde NOS izoenzimlerinin lokalizasyonu ve etkileri gösterilmiştir.



İndüklenebilir NOS (iNOS veya NOS-II)

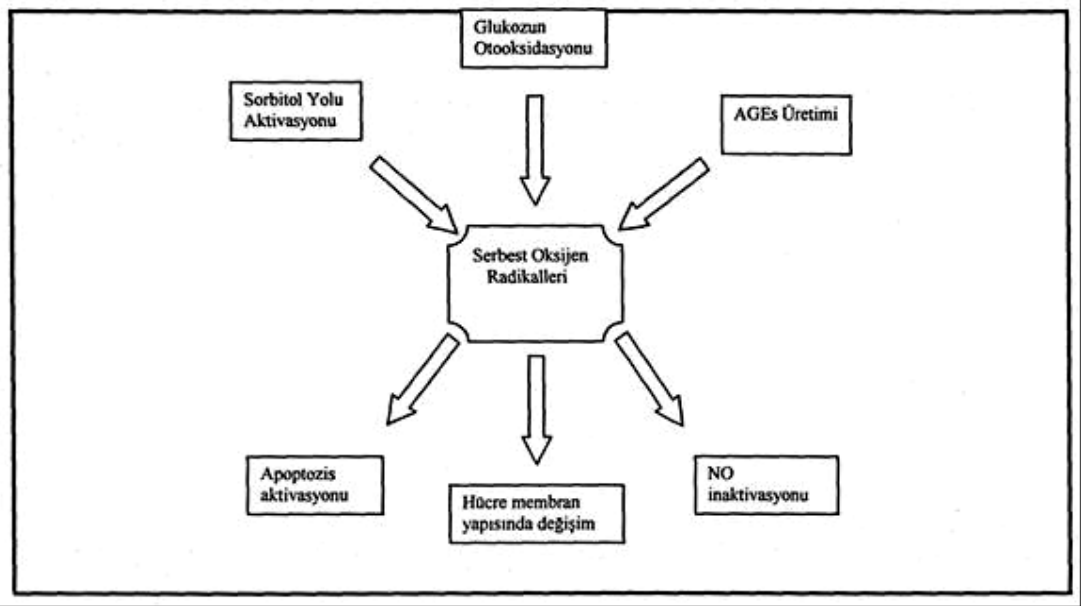
Retinada, retina Müller hücreleri endotoksin ve sitokin uyarısından sonra NOS-I izoenzimi açığa çıkar. İnsanda, sığırdada ve sığırda retina pigment epitelinde NOS-II bulunmuştur. İnsan RPE hücrelerinde interferon-gamma ve interlekin-1-beta (IL-1-β) uyarısı NOS-II üretimi için şarttır. Son zamanlarda in vitro ortamda sitokin verildikten sonra NOS-II retina perisitlerinde ve kapiller endotel hücrelerinde tespit edilmiştir (103).

#### **2.3.4.3. Nitrik Oksit ve Retina**

Retina iskemisinde NO'nun patogeneze olan katkıları tartışmalıdır. Yeni araştırmalar NO'nun iskemik hasar mekanizmasında etkilenen önemli bir ajan olduğunu, serbest radikal üretilmesi ile nöronal hücre ölümünü kolaylaştırdığını ve N-metil-D- aspartat-reseptör aracılı toksisiteye neden olduğunu bildirmektedirler. Retina iskemik dönem esnasında hasar görür, ancak iskemiden sonra paradoksal olarak serbest oksijen radikalleri oluşabilir. İskemiden sonra retinada süperoksit anyon varlığı bunun kanıtıdır, oluşan serbest radikaller NO ile birleşip peroksinitrit oluşturabilir. Bu nedenle farklı serbest radikallerin kombinasyonu retinada iskemi sonrası reperfüzyonda hücrelere toksik etki gösterebilir (102).

#### **2.3.4.4. Vitreoretinal Proliferasyon ve Nitrik Oksit**

İn vitro ortamda NO'nun RPE hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Proliferatif retinal hastalıklarda RPE hücre proliferasyonu ile birlikte olan retina patolojilerinde NO'nun rolü olabileceği, hatta NO'nun hücre büyümesini kontrol edebileceği bildirilmiştir. Proliferatif vitreoretinopati (PVR) hastalardan elde edilen vitreus örneklerindeki NO düzeyi ile hastalık arasındaki ilişkinin, PVR patolojisinin (enflamasyon, hücre proliferasyonu) anlaşılmasında önemli olabileceği vurgulanmaktadır (102, 104).



**Şekil 6.** Diyabette serbest oksijen radikalleri oluşumunun nedenleri ve sonuçları

## 2.4. VEGF

Tüm büyüme faktörleri içerisinde üzerinde en çok çalışılan faktördür. Vasküler permeabilite faktörü ya da vaskulotropin olarak bilinir. Beş izoformu tanımlanmıştır. Bunlar VEGF-A, B, C, D, E'dir. VEGF-A'nın iki tip reseptörü vardır; VEGFR-1 (Flt-1) ve VEGFR-2 (kinase insert domain-containing receptor; KDR). VEGF-C ve VEGF-D, VEGFR-3 (Flt-4) reseptörü üzerinden etkilidir. VEGF-B sadece VEGFR-1 reseptörüne yüksek affinite gösterirken, VEGF-E sadece VEGFR-2 reseptörüne bağlanır. Ayrıca yeni izole edilen neuropilin-1 (NP-1) VEGF için koreseptör olup VEGF-A'nın VEGFR-2 reseptörüne bağlanmasını artırır (105). VEGF-A endotelial hücreleri ve monositleri uyararak doku faktörü (TF) yapımını artırır, böylece koagulasyon zincirini aktifler. VEGFR-1'lere karşı geliştirilen antikolar retinal ve tumoral anjiyogenezisi inhibe eder. VEGF vasküler gelişim, ovulasyon ve tümör anjiyogenezisinde rol alır. Hipoksi VEGF ekspresyonu için major regülatördür. VEGF reseptörüne bağlandığında spesifik proteinkinaz C izoformunu ( $\beta 2$ ) aktive ederek ödem ve neovaskularizasyon oluşturur. İnsanlardaki VEGF geni kromozom 6p21.3 üzerinde yerleşmiştir. Kodlayıcı bölge ~14 kb'lik bir alan kaplamaktadır ve 8 exon'dan oluşmaktadır (Şekil 1). Tek bir pre-mRNA'nın

alternatif splicing'i ( birleştirilmesi) çok sayıda farklı VEGF türünü oluşturur (106). Bir VEGF fragmanının X-ışını kristalografisi VEGF'nin, dimerik sistein-boğumlu (ilmekli) büyüme faktörü süper ailesine mensup olduğunu göstermektedir (107).

#### 2.4.1 VEGF ekspresyonu

Hipoksi, VEGF mRNA düzeylerinde hızlı ve güçlü bir artışı indüklemektedir. Bu durum özellikle, tümörlerin nekrotik alanları etrafında daha belirgin bir şekilde görülmektedir. İşin ilginç, VEGF ailesinin diğer üyeleri ve bFGF hipoksi tarafından indüklenmemektedir. Bu nedenle VEGF, hipoksi ile indüklenmiş NV esas, en önemli mediatörü olmalıdır. Hipoksik hücrelerden salgılanan adenosin, adenosin A2 reseptörlerine bağlanır ve c-AMP bağımlı protein kinaz (PKA) yolu üzerinde VEGF'ü upregüle eder (108). Hipoksi yanıt elemanı (HRE), VEGF geninin üst basamaklarında yer alan bir VEGF artırımı ile ilgili bir gen bölgesidir. Bu HRE hipoksi ile indüklenebilir faktör I (HIF-1) için bir bağlanma yeri içerir. Düşük oksijen basıncı HIF-1 düzeylerini post-transkripsiyonel düzeyde artırır ve ayrıca HIF-1'in DNA-bağlayabilme kapasitesini de artırır (109). VEGF-A'nın VEGFR-2'ye bağlanması ile endotel hücrelerinde yapısal nitrik oksid sentaz (eNOS) enzimi aktive olur. NO endotel hücrelerinde proliferasyon, migrasyon ve aktin sitoskeletonda reorganizasyona neden olur. Hücre içi mitojen aktive edici protein (MAP) aktivasyonu ile endotel hücre proliferasyonu gerçekleştirilir (110). VEGFR-3 embriyonik gelişimin erken dönemlerinde venöz endotelde saptanmıştır. Daha sonra gelişimin geç safhalarında yeni gelişmekte olan lenf damarlarında izlenir. İnsanda sadece lenfatik endotelde ve bazı yüksek endotelyal venüllerin VEGFR-3 eksprese ettiği saptanmıştır (111). Daha sonraki çalışmalar VEGFR-3'un epitele komşu, istirahat halindeki kan damarları endotelinde bulunduğunu epitel hücreleri ve endotel hücreleri arasında kompleks parakrin ilişki olduğunu göstermiştir (112).

## 2.5. Endotelin Peptidler

1988 yılında Yanagisawa ve arkadaşları tarafından domuz aorta endotelinden izole edilen endotelin-1 (ET-1), endojen vasoaktif nöropeptid olup bilinen en potent vasokonstriktör maddedir (113). Makrofajlar, astrositler ve endotelyal hücrelerce üretilmektedir. Keşfinden hemen sonra yapılan çalışmalarda beyin(114), kalp (115), böbrek (116), akciğer, bağırsak ve göz (117, 118) gibi pek çok dokuda mevcudiyeti gösterilmiştir. ET-1 endotel tarafından salınır. Güçlü vazokonstrüksiyon yapan endotelin varlığı retina ve koroid dokusunda gösterilmiştir. Tip I ve tip II diabetli ve retinopatisi olan hastalarda plazmada endotelin-1 konsantrasyonunda artış gözlenmiştir. ET-1'in hiperoksiye cevap olarak vazokonstrüksiyon yaptığı ileri sürülmektedir (8). ET, embriyogenez (119) ve hemostaz (120, 121) için esansiyel bir maddedir. ET ve reseptörlerinden sorumlu genlerin yokluğu ölümlerle sonuçlanmakta olup ET'nin nöral krest hücrelerinin migrasyon ve farklılaşmasında rol aldığı görülmüştür (122, 123). ET-1 ve beraberindeki proenflamatuar sitokinlerin kalp krizi, konjestif kalp yetmezliği, ateroskleroz, hipertansiyon, diabet, inme, glokom ve üveit gibi çeşitli patolojilerden sorumlu olduğu belirtilmiştir. Pek çok nöropeptid gibi endotelinler kalp dışındaki dokularda çok düşük düzeyde eksprese edilmektedir. Hipotalamus ve retina gibi dokulardaki rolü hala tam anlamıyla açıklığa kavuşmamıştır.

### 2.5.1 Endotelin İzofomları

Endotelin ailesinin üç izoformu mevcuttur, ET-1, -2 ve -3. Tüm izoformlar ayrı genlerde eksprese edilmekte ve sonrasında bir dizi posttranslasyonel işlem ile 21 aminoasitten oluşan matür endotelin izoformu oluşmaktadır (124, 125). Oküler dokularda baskın olarak ET-1 ve ET-2 izoformlarının bulunduğu görülmüştür. Kan-aköz ve kan-retina bariyeri büyük moleküllerin geçişine engel olmakta aynı zamanda göze immün özellik kazandırmaktadır. Bu nedenle hemostazdan sorumlu makromoleküller lokal olarak sentez edilmelidir (126). İmmunreaktif ET-1

ekspresyonu, iris, koroid, retina, optik disk, silier cisim, lens ve kornea endoteli gibi oküler yapılarca gerçekleştirilebilmektedir. Aköz ve vitreusta da mevcudiyeti çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.

### **2.5.2 Endotelin Sentez ve Salınımı**

Endotelin sentezi üç basamaklı proteolitik işlem sonucunda gerçekleşmektedir. 212 aminoasitten oluşan preproendotelin, peptidazlar ile proendotelin'e, proendotelin ise dibazik aminoasit konvertaz ile big-enotelin'e çevrilmektedir. Son basamakta big-enotelin, endotelin converting enzim (ECE) ile 21 aminoasitten oluşan matür ve aktif endotelin'e dönüşmektedir (126-128). ECE membrana bağlı nöral endopeptidaz-24 ile benzer homolojiye sahiptir. Endopeptidaz-24 çeşitli dokularda bu peptidlerin düzeyini regüle etmektedir. ECE-1, çinko bağımlı-fosforamidon'a sensitif bir matriks metalloproteinazdır. ECE, hücrelerde plazmelemma içinde olup ET üretimini azaltmak için iyi bir terapötik hedefdir. ET-1, hücre içinde endoplazmik retikulum ve golgi veziküllerinde lokalize olup ekzositoz ile hücre dışına salıverilmektedir. Doku bütünlüğüne bağlı olarak hücrelerin bazolateral veya apikal yüzünden salınmakta ve parakrin etki oluşturmaktadır. TGF $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-1, interferon- $\gamma$ , trombin ve kalsiyum ET-1 sentez ve sekresyonunu artırır (129, 130). Atrial natriüretik peptit ve nitrik oksit donörleri ise ET-1 sekresyonunu azaltır (131). Sekresyondaki azalmadan cGMP bağımlı yol sorumlu görülmektedir. Nitrik oksit aynı zamanda ET-1'in reseptöründen ayrılmasına neden olmaktadır (132).

### **2.5.3 Endotelin Reseptörleri Ve Oküler Ekspresyonları**

ET reseptörleri, G protein reseptörleri olup ET<sub>A</sub> ve ET<sub>B</sub> alt tipleri mevcuttur (133). ET-1 tarafından ET<sub>A</sub> reseptörlerinin uyarılması vazokonstriksiyona, ET<sub>B</sub> reseptörlerinin uyarılması ise NO aracılığıyla vazodilatasyona neden olmaktadır (134). ET<sub>B</sub> reseptörler aynı zamanda dolaşımdaki ET-1'in klirensine (klirens reseptör) neden olmaktadır (135). ET<sub>A</sub> reseptörleri ET-1 ve ET-2'ye eşit

ve yüksek affinite gösterirken, ET-3'e zayıf affinite gösterirler. ET<sub>B</sub> ise her üç endotelin izoformuna yüksek affinite gösterir. ET reseptörleri desme membranı, korneal endotel, iris, silier cisim, retina ve koroidde gösterilmiştir. Retina ve koroid damarlarında ET<sub>A</sub> reseptörleri yoğunlukta retinanın nöronal ve glial komponentlerinde ET<sub>B</sub> reseptörleri yoğunluktadır (136). ET-1 intraselüler kalsiyum akımını artırır. Bu yolla oküler dokularda oluşturduğu etkiler: Silier kas: Yüksek dozdaki ET-1, ET<sub>A</sub> reseptör aracılığıyla kontraksiyona, düşük dozda ET-1 ise ET<sub>B</sub> reseptörü aracılığıyla relaksasyona neden olur (137).

Trabeküler ağ: Trabeküler dokudaki fenestralarda kontraksiyona neden olur (138).

İris: ET<sub>A</sub> ve ET<sub>B</sub> aracılığıyla dilatatör pupilla kasında kontraksiyona neden olur (139). Korneal epitelium ve endotel: ET<sub>A</sub> aracılığıyla proliferasyona neden olduğu izlenmiştir (140).

Optik sinir başı: Kan akımında azalma ve glokomatöz hasardakine benzer astrosit proliferasyonuna neden olmaktadır (141).

Retina-koroid: Kan damarlarının vazokonstriksiyonunda ve yara iyileşmesinde rol alır (142).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Hastanesi Göz ve Endokrinoloji polikliniğine başvuran 160 DM tanısı alan hastalarla gerçekleştirildi. Mustafa Kemal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı.

Olgular tam bir oftalmolojik muayeneden geçirildiler. Snellen eşeli kullanılarak tashihli ve tashihsiz görme keskinlikleri tespit edildi. Goldmann applanasyon tonometresi ile göz içi basınçları ölçüldü. Olguların ön segment muayeneleri biyomikroskopla yapıldı. Siklopentolat %1 damlatılarak pupil dilatasyonu sağlandı. Direkt oftalmoskopiye takiben Goldmann üç aynalı kontakt lensi ile ayrıntılı fundus muayenesi yapıldı. Fundus muayenesinde DR tespit edilen olgulara FFA çekildi (Topcon ImageNet, Japonya).

Çalışmaya alınan hastalardan en az 12 saatlik açlıktan sonra ertesi sabah 08:00-10:00 saatleri arasında lipid profili, glukoz, HgbA1c, kreatinin, VEGF, ET1, NO düzeylerine bakılmak üzere venöz yoldan kan örneği alındı. Hastalardan alınan venöz kan örnekleri 2500 g 5 dakika santifüj edilerek serum örnekleri elde edildi. Serum örnekleri porsiyonlar halinde -70° C 'lik derin dondurucuda en fazla 6 ay saklandı.

**ET-1 ölçümü:** ET-1 ölçümü için ET-1 human enzyme immunoassay (Phoenix Pharmaceuticals) kiti kullanıldı. Alınan serumlar örnekleme dilüenti ile dilüe edilip karıştırıldı. Sonuçlar, üzerinde firmanın kitindeki standartlar ve kontrolün örneklerle okunmasıyla ng/ml olarak elde edildi.

**Serum VEGF Konsantrasyonunun Ölçümü:** VEGF düzeyi ölçümleri solid faz sandviç ELISA yöntemiyle (eBioscience) çalışıldı. Bu kitle VEGF A izoformunun analizi yapılmaktadır.

**Serum Nitrik Oksit Düzeyi Ölçümü:** Dokuda nitrit ve nitrat miktarı deproteinizasyondan sonra Griess reaksiyonu ile belirlenir (Lit NO<sub>3</sub>). Total nitrit (nitrit + nitrat) konsantrasyonu modifiye kadmiyum redüksiyon metodu ile değerlendirildi. pH 9.7 glisin tamponunda bakır (Cu) kaplı kadmiyum granülleri deproteinize numune (homojenat, serum, eritrosit) süpernatantı ile 90 dakikalık inkübasyon sonunda nitrat redüksiyonu sağlandı. Üretilen nitrit; sülfanilamid ve buna bağlı N-naphthylethylene diamin (NNDA) diazotizasyonu ile reaksiyon sonucu oluşan pembe rengin 545 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunması ile belirlendi. Sonuçta elde edilen nitrit konsantrasyonu ilk konsantrasyondan çıkarılarak nitrat miktarı belirlendi.

Olgular, diyabetik retinopati tipleri açısından 3 gruba ayrıldı. Birinci grup, diyabetik retinopatisi olmayan 52 (E=28, K=24) hastayı; ikinci grup nonproliferatif diyabetik retinopati 52 (E=26, K=26), hastayı ve üçüncü grup proliferatif diyabetik retinopati 56 (E=32, K=24) hastayı kapsayacak şekilde oluşturuldu.

Airlie House sınıflandırmasının modifiye şekli gözden geçirilerek, diyabetik retinopatinin varlığının ve şiddetinin belirlenmesinde, kapiller kayıp ve dilatasyon, arter anormallikleri, retina ve maküler alanda ödem ve hemorajiler, sert ve yumuşak eksudaların varlığı, makulada kistoid değişiklikler, retinal hemorajiler, diskte ve/veya disk harici retina alanlarında neovaskularizasyon varlığı, retina önünde ya da vitreus içinde fibroproliferatif materyalin bulunması dikkate alındı. Yukarıdaki sınıflama kriteri dikkate alınarak hastalar aşağıdaki gruplara bölündü:

Grup 1: Hiçbir patolojik fundus değişikliği bulunmayan 52 hasta, diyabetik retinopatisi olmayan gruba dahil edildi.

Grup 2: Mikroanevrizma, mikrohemoraji, sert ve/veya yumuşak eksuda, arteriyel ve venöz deformasyon görülen ancak yeni damar oluşumu, fibrovasküler proliferasyon, vitreus hemorajisi, proliferatif vitreoretinopati bulunmayan 52 hasta nonproliferatif diyabetik retinopati grubuna alındı.

Grup 3: Özellikle yeni damar oluşumu, vitreus hemorajisi ve proliferatif vitreoretinopati görülen 56 hasta, proliferatif diyabetik retinopati grubuna dahil edildi.

Diyabetik retinopati her iki gözde ayrı ayrı evrelendirilmiş olgularda DR evresi, retinopatisi ağır olan gözdeki evre olarak kabul edildi. Hastalardan çalışma için kan örnekleri alınmadan önce tüm hastalar bilgilendirilerek imzalı onamları alındı.



Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- 1- Tip II DM tanısı dışında hiçbir sistemik patolojisi olmayanlar
- 2- Göz içi basıncı 11-21 mmHg arasında olanlar
- 3- Glokom anamnezi olmayan ya da glokom tiplerinden herhangi birisinin saptanmadığı olgular
- 4- Fundusun görüntülenmesini engelleyecek ortam opasitesi olmayanlar (nefelyon, lökom, katarakt vb.)
- 5- Diyabetikretinopati dışında retinapatolojisi olmayanlar (yaşa bağlı makula dejenerasyonu, retinitis pigmentosa, retinal skar, dejeneratif miyopi vb )

Çalışmamızda plazma VEGF, ET1 ve NO düzeyleri ile diyabetik retinopatinin evreleri arasında ilişki olup olmadığını ortaya çıkarmak amacıyla 160 DM hastasında kanda VEGF, ET1 ve NO düzeyleri analiz edildi.

### **3.1 İstatiksel Analiz**

İstatiksel hesaplamalar, Windows tabanlı ticari istatistik paket program SPSS 13 kullanılarak yapılmıştır. Kategorik verilerin analizinde Pearson ki-kare testi kullanıldı. Kreatinin, glukoz ve NO parametreleri normal dağılım gösterdiğinden bağımsız grupların anlamlılık analizinde Man-Whitney-U testi kullanıldı. Normal dağılım gösteren parametreler için One-Way-ANOVA testi kullanılırken çoklu grup Post-hoc analizinde Tukey testinden faydalanıldı. Hesaplanan  $p < 0,05$  değerleri anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

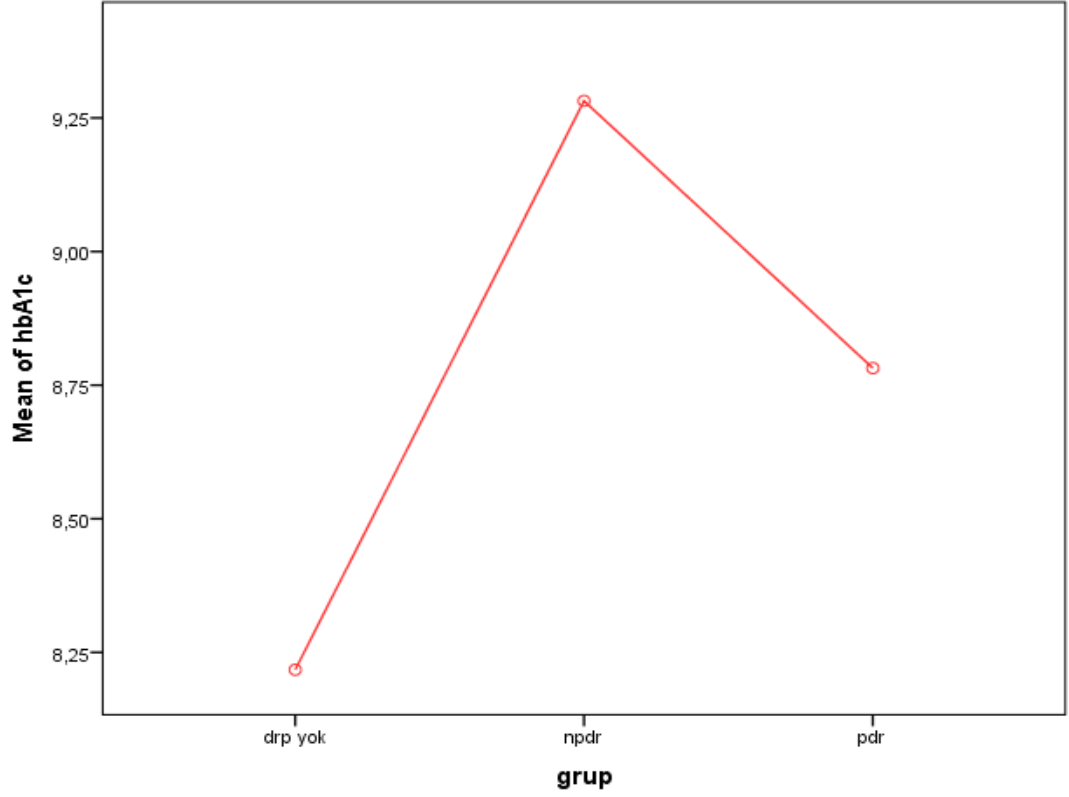
Diyabetik retinopati tipleri açısından hastalar 3 gruba ayrıldı. Birinci grupta, retinopatisi olmayan 52 hasta, ikinci grupta nonproliferatif diyabetik retinopati 52 hasta ve üçüncü grupta proliferatif diyabetik retinopati 56 hasta olmak üzere toplam 160 hasta çalışmaya alındı. Çalışmaya 86 erkek (%53,8); 74 kadın (%46,3) katıldı. Ortalama yaş  $57,25 \pm 9,92$  idi. Erkek/kadın oranı  $1,46 \pm 0,5$  idi.

**Tablo 1.** Grupların yaş ve cinsiyet tablosu

		Sayı	ortalama	St. Sapma
yaş	dr yok	52	55,67	11,739
	npdr	52	58,46	9,080
	pdr	56	57,59	8,759
	Total	160	57,25	9,926
cinsiyet	dr yok	52	1,46	,503
	npdr	52	1,50	,505
	pdr	56	1,43	,499
	Toplam	160	1,46	,500

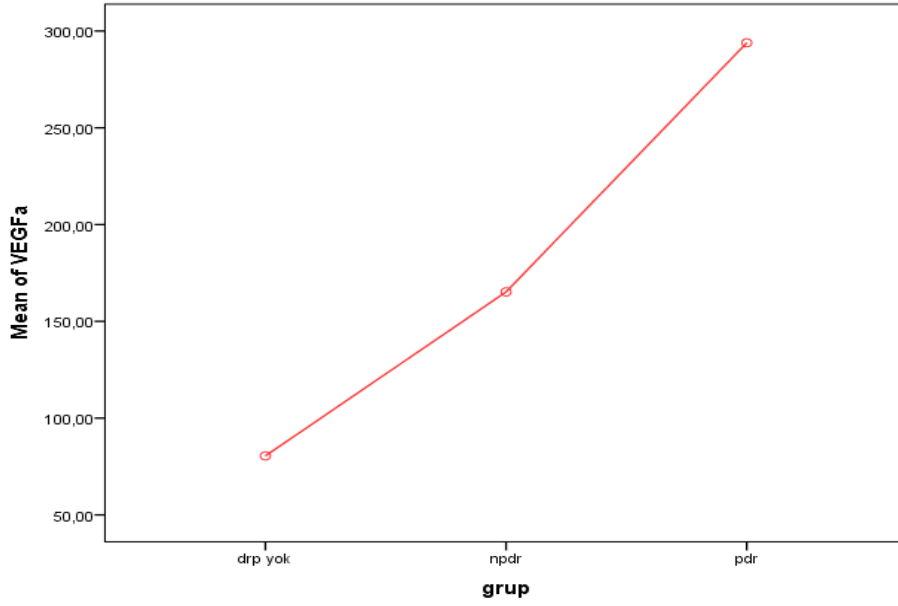
Gruplar yaş, cinsiyet dağılımı ve hasta sayısı yönünden benzer özelliklerdedi ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p < 0.05$ ) (Tablo 1). Gruplar arasında açlık kan şekeri, LDL, trigliserit ve kreatinin değerleri arasında anlamlı fark bulunmadı.

**Tablo 2.** Gruplardaki HbA1c oranları



HbA1c düzeyleri gruplar arasında kıyaslama yapıldığında HbA1C değeri diyabetik retinopati olmayan grupta (grup1), nonproliferatif (grup 2) ve proliferatif diyabetik retinopatisi (grup 3) olan gruplara göre anlamlı düşük değerler saptanmıştır (P=0.047). (Tablo 2)

**Tablo 3.** Gruplardaki ortalama VEGF düzeyleri



Serum VEGF A düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklar saptanmıştır.

(Tablo 3)

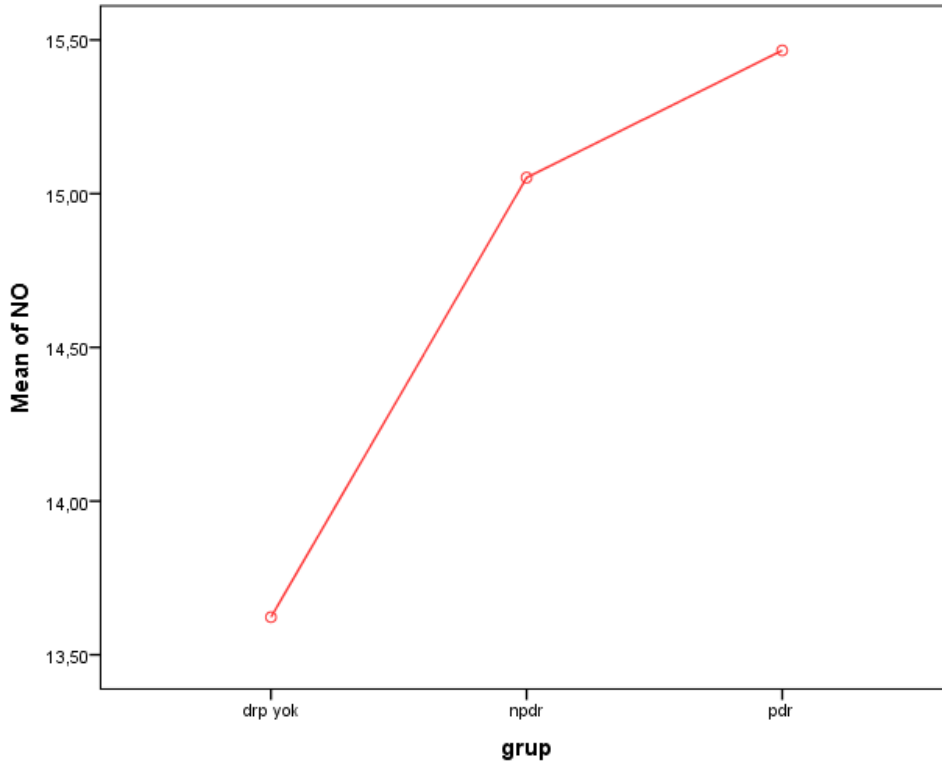
**Tablo 4.** Gruplardaki VEGF-A, Endotelin ve NO düzeylerinin istatistiksel analizi

<b>Endotelin</b>	dr yok	Npdr	-,07204	,02909	<b>,038</b>
		Pdr	-,09363	,02857	<b>,004</b>
	npdr	dr yok	,07204	,02909	,038
		Pdr	-,02159	,02857	,731
	pdr	dr yok	,09363	,02857	,004
		Npdr	,02159	,02857	,731
<b>VEGFa</b>	dr yok	Npdr	-84,73846	17,98197	<b>,001</b>
		Pdr	-213,45099	17,65794	<b>,001</b>
	npdr	dr yok	84,73846	17,98197	<b>,001</b>
		Pdr	-128,71253	17,65794	<b>,001</b>
	pdr	dr yok	213,45099	17,65794	<b>,001</b>
		Npdr	128,71253	17,65794	<b>,001</b>
<b>NO</b>	dr yok	Npdr	-1,42981	1,36027	,546
		Pdr	-1,84339	1,33576	,354
	npdr	dr yok	1,42981	1,36027	,546
		Pdr	-,41359	1,33576	,949
	pdr	dr yok	1,84339	1,33576	,354
		Npdr	,41359	1,33576	,949

Grup 1'de (DR olmayan), grup 2 (NPDR)'ye göre anlamlı düşük değer saptanmıştır ( $p=0.001$ ). Grup 2'de (NPDR olan) grup 3'e gore anlamlı düşük değerler bulunmuştur ( $P=0.001$ ). (Tablo4)

Serum Endotelin düzeyleri gruplar arasında kıyaslandığında grup 1'de (DR olmayan); grup 2 ve grup 3'e göre anlamlı düşük değerler elde edilmiştir (sırasıyla  $p=0.038, 0.004$ ) (Tablo 4).

**Tablo 5.** Gruplardaki ortalama NO düzeyleri



Serum NO düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi ( $p>0.05$ ). (Tablo 5)

## 5. TARTIŞMA

DM mikrovasküler ve makrovasküler yapıları etkileyen komplikasyonlara sahip yaygın görülen bir hastalıktır. Mikrovasküler hastalığın tedavisindeki gelişmeler çeşitli diyabetik komplikasyonların tedavisinde ümit verici olduğunu göstermektedir (143).

Diyabet PKC aktivasyonu, ilerlemiş glikozilasyon son ürünü, sitokin ve büyüme faktörlerinin up-regülasyonu, reaktif oksijen türlerinin artışı ve renin-anjiotensin sisteminin uyarılması gibi çeşitli patolojik değişikliklere neden olur. Bu değişikliklerin tamamı VEGF yapımını arttır (144, 145). VEGF makromoleküllere karşı vasküler permeabiliteyi arttırması ve monosit kemotaksisini ve doku faktörü yapımını uyarması nedeniyle, diyabetik mikrovasküler komplikasyonların patogenezinde rol oynamaktadır (146). Aiello ve arkadaşları, DR tanısı almış hastaların plazma ve vitreus sıvısında VEGF-A düzeyinin yüksek olduğunu göstermiştir (147). DR mevcut olgularda retina ve oküler sıvılarda VEGF-A düzeylerinde artış için temel stimulusun retinal hipoksi ve iskemi olduğu kabul edilmektedir. Spilsbury ve ark. rat gözleri üzerinde yaptığı deneysel çalışmada recombinant adenovirus vektör ile retinada aşırı VEGF-A üretiminin anjiogenezisi uyardığı ve koroidal neovaskülarizasyonla sonuçlandığını göstermiştir (148). DM'li hastalarda alınan vitreus örneklerinde de PDR'li gözlerde NPDR'li gözlere oranla VEGF-A konsantrasyonunun daha yüksek olduğu bildirilmiştir (147). VEGF-A aynı zamanda DR'nin erken dönemlerinin gelişiminde de rol aldığı birçok deneysel çalışmayla ortaya konmuştur (149). Artan VEGF-A düzeyleri vasküler geçirgenlikte artışa neden olarak, retinopati oluşumuna katkıda bulunur. VEGF üretimini stimüle eden en önemli faktörün hipoksi olduğu bilinmektedir. Ancak hipoksi dışında da VEGF üretimini uyarıcı pek çok sitokin ve metabolit (glukoz, AGEs, IGF-1 ve anjiotensin II)'inde diyabetik olgularda artan düzeyde olduğu bilinmektedir (51, 150-152). Hogeboom Van Buggenum ve ark. DR'li hastalarda vitreus sıvısında

VEGF-A seviyesinin normalden yüksek bulmuşlar ve anjiotensin II inhibitörü (enalapril) alan PDR'li hastalarda retinal VEGF-A üretiminin azaldığı tespit edilmiş (153). Ozaki ve ark.'ları, PTK787, PKC412 gibi potent VEGF reseptör kinaz inhibitörlerinin DR ve diğer iskemik retinopatilerin tedavisinde (erişkinlerde) etkin bir rol oynadığını rapor etmişlerdir (150). Abu El-Asrar AM ve arkadaşlarının, PDR'li hastalarda yaptığı bir çalışmada; hastalardan alınan vitreus örneklerinde, VEGF-A düzeyinin hastalığın ciddiyetinin derecesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (154). Baharivand N ve ark. Yaptığı bir çalışmada 30 PDR'li, 35 NPDR'li hastadan alınan serum ve vitreus VEGF-A düzeyleri kıyaslandığında, erken evre hasta grubunda serum ve vitreusta PDR'li hasta grubuna göre anlamlı düşük VEGF-A düzeyleri elde edilmiştir (155). Koleva-Georgieva ve ark, 38 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu ile tip 2 DM'li hastadan oluşan 2 grup arasında serum VEGF-A düzeyi ve bazı diğer inflamatuvar mediatör düzeylerini kıyaslamışlardır. Tip 2 DM'li hastalardan oluşan grupta serum VEGF-A düzeyi anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. TİP 2 DM'li hastalar kendi aralarında diyabetik retinopati varlığı ve şiddeti dikkate alınarak gruplandırılmış ve diyabetik retinopatisi olan grupta olmayana göre anlamlı yüksek sonuç elde edilmiştir. Ayrıca diyabetik retinopati şiddeti ile serum VEGF-A düzeyleri arasında korelasyon saptamışlardır (156). Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak en yüksek VEGF-A düzeyi grup 3'te (PDR'li grup) saptanmıştır. VEGF-A düzeyi grup 2'de grup 1'den anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, retinopatinin en erken evrelerinden itibaren VEGF ekspresyonunu artarak retinopatinin gelişmesinde ve progresyonundan sorumlu olduğunu düşündürebilir (35).

Endotelin-1 (ET-1) endojen vasoaktif nöropeptid olup bilinen en potent vasokonstriktör maddedir (113). Makrofajlar, astrositler ve endotelial hücrelerce üretilmekte olup beyin, kalp, böbrek, akciğer, bağırsak ve göz gibi pek çok dokuda mevcudiyeti gösterilmiştir (114-116). Nefropati mikrovasküler ET-1 retinadaki değişikliklere neden olan bir mediatördür (14). Xu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, DM olmayan olgularla grubuna diyabeti olan olgular karşılaştırdığında plazma ET 1 düzeyinin DM'li olgularda yüksek olduğunu; bu düzeyin DR seviyesi ve oküler hemodinami ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (157). Yazarlar Plazma ET 1 seviyesinin DR'nin erken tanısında kullanılabileceği düşünmektedirler (157). Özmen ve

ark diyabetik olmayan, diyabeti olup retinopatisi olmayan ve DR'li grupların kanlarında endotelin düzeyleri arasında anlamlı fark tesbit etmiştir (158). Rodlan ve ark.'nın yaptıkları çalışmada DR'li hastaların vitreus ve plazma örneklerinde immunreaktif ET-1 düzeyi araştırılmıştır. 25 PDR, 25 NPDR ve 25 kontrol grubundan alınan plazma ve vitreus örneklerinde radyoimmünassay ile immunreaktif ET-1 düzeyi bakılmıştır. Endotelin-A ve Endotelin-B reseptörleri PCR (Polimerase Chain Reaction) ile analiz edilmiştir. DR'de kontrol grubuna göre, PDR'de de NPDR'lere göre Endotelin-1'in anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır (159). Yokota ve ark. yaptıkları çalışmada diyabetik ratlarda retinada PKC'nin aktive olduğunu ve trombosit kökenli büyüme faktörünü arttırdığını, bunun da Endotelin-1 ve VEGF artışına neden olduğunu göstermiştir (160). Çalışmamızda endotelin düzeyi grup 1'de grup 2 ve grup 3'e göre anlamlı düşük saptandı. grup 2 ve grup 3 arasında Endotelin-1 düzeyinde anlamlı fark bulunmadı. DM erken evrelerinde Endotelin-1 artışının retinal kan akımını azaltarak retinopati gelişimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (3).

Son yıllarda nitrik oksitin sistemik hastalıklardaki rolü ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Nitrik oksitin etiyopatogenezinde rol aldığı en önemli hastalıklardan birisi diabetes mellitusdur. NO oldukça reaktif bir intersellüler sinyal molekülü olup antitrombojenik ve antiplatelet regülatuar aktivitelere ek olarak vasküler tonüs ve vasküler düz kas hücrelerinin antiproliferatif düzenlenmesinde de anahtar role sahip çok fonksiyonlu bir moleküldür (161, 162).

Retinopati geliştirilmiş rat retinalarında artmış nitrik oksit sentaz aktivitesi gözlenmiştir (163). Diyabetik hastalarda aköz humörde yüksek nitrik oksit seviyeleri bildirilmiştir (164). Retinopati gelişen tip I diyabet hastaları endotelial disfonksiyonun göstergesi olarak artmış nitrik oksit sentaz aktivitesine sahiptirler (165). Yılmaz ve ark, kontrol grubu olarak maküla holü olan hastalar ile kıyaslandığında PDR'li hastaların vitreusunda yüksek nitrat düzeyi saptamışlardır (166). İnan ve ark, tip 2 DM'li hastalarda yaptığı çalışmada, proliferatif diyabetik retinopatisi olan grupta, olmayanlara kıyasla serumda anlamlı nitrik oksit yüksekliğine rastlamışlardır (167). Özden ve ark, 39 DM'li hasta ve 11 kişi kontrol grubuyla yaptığı bir çalışmada, serum NO seviyelerini kıyaslamıştır. DM'li hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı yüksek sonuçlar elde etmişlerdir. Ayrıca



DM'li hastalar retinopati yönünden incelenmiş, retinopati derecesine göre gruplara ayrılmışlardır. Proliferatif DR'li grupta diğer gruplara göre serum NO düzeyinde anlamlı yüksek sonuçlar elde etmişlerdir (168). Doğanay ve ark, 53 DM'li ve 15 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubuyla yaptığı çalışmada serum NO düzeylerini değerlendirmişlerdir. DM'li hastalar da kendi arasında, DR olmayan; NPDR'li olan ve PDR'li olarak gruplara ayrılmışlardır. Gruplar arasında kıyaslama yapıldığında, en yüksek serum NO düzeyi PDR'li grupta saptanmıştır. NPDR'li grup, diyabetik retinopatisi olmayan DM'li gruba kıyasla anlamlı yüksek ölçüde serum NO düzeyine sahiptir. Diyabetik retinopatisi olmayan DM'li hastalar kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark elde edilmemiştir (169). İzumi ve ark, yaptıkları bir çalışmada diyabetik hastalarla diabeti olmayan hastaları kıyasladığında diabeti olan grupta kontrol grubuna göre anlamlı yüksek NO düzeyi elde etmişlerdir (170). Çalışmamızda serum NO düzeyi PDR'li grupta daha yüksek bulunmasına rağmen fark anlamlı değildi. Bunun sebebi NO düzeyi tespitinde kullandığımız yöntem ve hasta sayımızın azlığı olabilir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada DM'li hastalarda DR olmayan, NPDR'li olan ve PDR'li olan gruplarda serum VEGF-A, NO, ET-1 düzeylerini karşılaştırmayı amaçladık.

Sonuç olarak;

1. Çalışmaya toplam 160 DM'li hasta dahil edildi
2. Çalışmaya alınan hastaların 74 tanesi kadın, 86 tanesi erkekti
3. Serum VEGF-A değeri diyabetik retinopati derecesi ile göre anlamlı olarak yüksek saptandı.
4. Serum ET-1 değeri NPDR ve PDR'li grupta, DR'si olmayan gruba göre anlamlı yüksek saptandı.
5. HbA1C değeri NPDR'li grupta diğer gruplara göre anlamlı yüksek saptandı.
6. Hastaların TG (Trigliserit), LDL, açlık kan şekeri ve serum kreatinin düzeyleri arasında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.
7. Hastaların NO düzeyi arasında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

DM hastalarının serumlarında diyabetik retinopatisi olmayan hasta grubunda, retinopatisi olan hasta gruplarına göre anlamlı düşük VEGF-A, ET-1 saptanması, DM'li hastalarda bu parametrelerin artışının retinopatiye meyil olduğunu düşündürmektedir. Ancak ET-1 düzeyi ile diyabetik retinopatinin ciddiyeti arasındaki ilişki açık bir şekilde ortaya konulamamıştır. Çalışmamızda NO düzeyinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Literatürü desteklemeyen bu sonuçların serum NO düzeyini saptama yönteminden ve hasta sayımızın azlığından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

## 7. KAYNAKLAR

1. Centers for Disease C, Prevention. Blindness caused by diabetes--Massachusetts, 1987-1994. MMWR Morbidity and mortality weekly report. 1996 Nov 1;45(43):937-41. PubMed PMID: 8927019.
2. Ananworanich J, Phanuphak N, Nuesch R, Apteerapong W, Rojnuckarin P, Ubolyam S, et al. Recurring thrombocytopenia associated with structured treatment interruption in patients with human immunodeficiency virus infection. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2003 Sep 1;37(5):723-5. PubMed PMID: 12942407.
3. Kang TC, An SJ, Park SK, Hwang IK, Won MH. P2X2 and P2X4 receptor expression is regulated by a GABA(A) receptor-mediated mechanism in the gerbil hippocampus. Brain research Molecular brain research. 2003 Aug 19;116(1-2):168-75. PubMed PMID: 12941474.
4. Kimura R, Anan H, Matsumoto A, Noda D, Maeda K. Dental root resorption and repair: histology and histometry during physiological drift of rat molars. Journal of periodontal research. 2003 Oct;38(5):525-32. PubMed PMID: 12941078.
5. Yao JY, Wang Y, An J, Mao CM, Hou N, Lv YX, et al. Mutation analysis of the Smad3 gene in human osteoarthritis. European journal of human genetics : EJHG. 2003 Sep;11(9):714-7. PubMed PMID: 12939660.
6. Ciulla TA, Amador AG, Zinman B. Diabetic retinopathy and diabetic macular edema: pathophysiology, screening, and novel therapies. Diabetes care. 2003 Sep;26(9):2653-64. PubMed PMID: 12941734.

7. Jochen S, Klaus TP, Helmut S, Andreas P. High levels of anjio­statin in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy after previous laser coagulation. *Diabetologia* 1998;2:A20( 0084).
8. Schmetterer L, Wolzt M. Ocular blood flow and associated functional deviations in diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 1999 Apr;42(4):387-405. PubMed PMID: 10230642.
9. Becquet F, Courtois Y, Goureau O. Nitric oxide in the eye: multifaceted roles and diverse outcomes. *Survey of ophthalmology*. 1997 Jul-Aug;42(1):71-82. PubMed PMID: 9265703.
10. Shimizu K, Wu GS, Sultana C, Kalra VK, Rao NA. Stimulation of macrophages by retinal proteins: production of reactive nitrogen and oxygen metabolites. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1999 Dec;40(13):3215-23. PubMed PMID: 10586945.
11. Bandello F, Pognuz R, Polito A, Pirracchio A, Menchini F, Ambesi M. Diabetic macular edema: classification, medical and laser therapy. *Seminars in ophthalmology*. 2003 Dec;18(4):251-8. PubMed PMID: 15513012.
12. Witmer AN, Vrensen GF, Van Noorden CJ, Schlingemann RO. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Progress in retinal and eye research*. 2003 Jan;22(1):1-29. PubMed PMID: 12597922.
13. Deng D, Evans T, Mukherjee K, Downey D, Chakrabarti S. Diabetes-induced vascular dysfunction in the retina: role of endothelins. *Diabetologia*. 1999 Oct;42(10):1228-34. PubMed PMID: 10525664.
14. Chakravarthy U, Hayes RG, Stitt AW, Douglas A. Endothelin expression in ocular tissues of diabetic and insulin-treated rats. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1997 Sep;38(10):2144-51. PubMed PMID: 9331278.
15. Piccoli GB, Mezza E, Soragna G, Pacitti A, Burdese M, Gai M, et al. Teaching peritoneal dialysis in medical school: an Italian pilot experience. *Peritoneal dialysis international : journal*

- of the International Society for Peritoneal Dialysis. 2003 May-Jun;23(3):296-9. PubMed PMID: 12938833.
16. Snell RS, Lemp MA. Clinical anatomy of the eye .The orbital blood vessels. 2nd ed. 1998; 277-289.
  17. Triphati RC, Wond M. The eye In: Basic and clinical science course. American Academy of Ophthalmology Section 2. 1999; 47-92.
  18. Marmor MF. The retinal pigment epithelium Jn : Yanoff M, Duker JS editors. Ophthalmology Mosby.1999;8: 2.1-2.4.
  19. Snell RS, Lemp MA. Clinical anatomy of the eye. The Eye ball 2nd ed. 1998;132-213.
  20. Schubert HD. . Structure and function of neural retina Jn : Yanoff M, Duker JS editors. Ophthalmology Mosby.1999;8: 1.1-1.4
  21. Weiter JJ, Ernest JT. Anatomy of the choroidal vasculature. American journal of ophthalmology. 1974 Oct;78(4):583-90. PubMed PMID: 4412020.
  22. Duker J, Weitter JJ. Duane's foundations of clinical ophthalmology Jn: Tasman W, Jaeger EA editors. Ocular circulation. JB Lippincott , New York. 1991; 1-34.
  23. Erhan E, Ugur G, Anadolu O, Saklayan M, Ozyar B. General anaesthesia or spinal anaesthesia for outpatient urological surgery. European journal of anaesthesiology. 2003 Aug;20(8):647-52. PubMed PMID: 12932067.
  24. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiologic Study of diabetic retinopathy. XIV. Ten-year incidence and progression of diabetic retinopathy. Archives of ophthalmology. 1994 Sep;112(9):1217-28. PubMed PMID: 7619101.
  25. Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS report number 9. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Ophthalmology. 1991 May;98(5 Suppl):766-85. PubMed PMID: 2062512.

27. Hiller R, Sperduto RD, Podgor MJ, Ferris FL, 3rd, Wilson PW. Diabetic retinopathy and cardiovascular disease in type II diabetics. The Framingham Heart Study and the Framingham Eye Study. *American journal of epidemiology*. 1988 Aug;128(2):402-9. PubMed PMID: 3293436.
28. Goebbels M. Tear secretion and tear film function in insulin dependent diabetics. *The British journal of ophthalmology*. 2000 Jan;84(1):19-21. PubMed PMID: 10611093. Pubmed Central PMCID: 1723218.
29. Schultz RO, Van Horn DL, Peters MA, Klewin KM, Schutten WH. Diabetic keratopathy. *Transactions of the American Ophthalmological Society*. 1981;79:180-99. PubMed PMID: 7342400. Pubmed Central PMCID: 1312182.
30. Seifart U, Stempel I. [The dry eye and diabetes mellitus]. *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*. 1994 Apr;91(2):235-9. PubMed PMID: 8012143. Trockenes Auge und Diabetes mellitus.
31. Bi Q, Zhang Z, He J. [Cerebrovascular diseases complications after cardiac surgery]. *Zhonghua yi xue za zhi*. 1999 Jun;79(6):439-40. PubMed PMID: 11715440.
32. Hikichi T, Fujio N, Akiba J, Azuma Y, Takahashi M, Yoshida A. Association between the short-term natural history of diabetic macular edema and the vitreomacular relationship in type II diabetes mellitus. *Ophthalmology*. 1997 Mar;104(3):473-8. PubMed PMID: 9082275.
33. Ozkan, Ş., Akar, S: Diabetik Retinopati, İstanbul 2004; s. 3, 4, 7, 30.
34. Clermont AC, Aiello LP, Mori F, Aiello LM, Bursell SE. Vascular endothelial growth factor and severity of nonproliferative diabetic retinopathy mediate retinal hemodynamics in vivo: a potential role for vascular endothelial growth factor in the progression of nonproliferative diabetic retinopathy. *American journal of ophthalmology*. 1997 Oct;124(4):433-46. PubMed PMID: 9323935.

35. Duh E, Aiello LP. Vascular endothelial growth factor and diabetes: the agonist versus antagonist paradox. *Diabetes*. 1999 Oct;48(10):1899-906. PubMed PMID: 10512352.
36. Litty GA, McLeod DS, Merges C, Diggs A, Plouet J. Localization of vascular endothelial growth factor in human retina and choroid. *Archives of ophthalmology*. 1996 Aug;114(8):971-7. PubMed PMID: 8694733.
37. Mathews MK, Merges C, McLeod DS, Litty GA. Vascular endothelial growth factor and vascular permeability changes in human diabetic retinopathy. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1997 Dec;38(13):2729-41. PubMed PMID: 9418725.
38. Candura SM, Verni P, Dellabianca A, Biale C, Perfetti L, Calcagno G, et al. [Epicutaneous sensitization to metals and contact allergic dermatitis: analysis of an ambulatory caseload]. *Giornale italiano di medicina del lavoro ed ergonomia*. 1999 Jan-Mar;21(1):40-5. PubMed PMID: 10771716. Sensibilizzazione epicutanea a metalli e dermatite allergica da contatto: analisi di una casistica ambulatoriale.
39. Cogan DG, Toussaint D, Kuwabara T. Retinal vascular patterns. IV. Diabetic retinopathy. *Archives of ophthalmology*. 1961 Sep;66:366-78. PubMed PMID: 13694291.
40. Biancari F, Kantonen I, Peltomaa R, Lepantalo M. Iloprost in the management of leg ulcer in polyarteritis nodosa. A case report. *International angiology : a journal of the International Union of Angiology*. 1999 Dec;18(4):335-6. PubMed PMID: 10811524.
41. Engerman RL. Pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes*. 1989 Oct;38(10):1203-6. PubMed PMID: 2676655.
42. Muraoka K, Shimizu K. Intraretinal neovascularization in diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 1984 Dec;91(12):1440-6. PubMed PMID: 6084213.
43. Anan'eva LP, Barskova VG, Koneva OA, Ushakova MA, Mach ES, Pushkova OV, et al. [Articular lesions in Ixodes tick-borne borreliosis (Lyme disease)]. *Vestnik Rossiiskoi akademii*

- meditsinskikh nauk / Rossiiskaia akademiia meditsinskikh nauk. 2003 (7):42-7. PubMed PMID: 12934471. Porazhenie sustavov pri iksodovykh kleshchevykh borreliozakh (laimskoi bolezni).
44. Patz A. Clinical and experimental studies on retinal neovascularization. XXXIX Edward Jackson Memorial Lecture. American journal of ophthalmology. 1982 Dec;94(6):715-43. PubMed PMID: 6184997.
45. Figarella-Branger D, Pellissier JF, Bianco N, Karpati G. Sequence of expression of MyoD1 and various cell surface and cytoskeletal proteins in regenerating mouse muscle fibers following treatment with sodium dihydrogen phosphate. Journal of the neurological sciences. 1999 Nov 30;170(2):151-60. PubMed PMID: 10561531.
46. Gabbay KH. Hyperglycemia, polyol metabolism, and complications of diabetes mellitus. Annu Rev Med 1975;26:521-36.
47. Bursell SE, Clermont AC, Aiello LP, Aiello LM, Schlossman DK, Feener EP, et al. High-dose vitamin E supplementation normalizes retinal blood flow and creatinine clearance in patients with type 1 diabetes. Diabetes care. 1999 Aug;22(8):1245-51. PubMed PMID: 10480765.
48. Bursell SE, King GL. Can protein kinase C inhibition and vitamin E prevent the development of diabetic vascular complications? Diabetes research and clinical practice. 1999 Sep;45(2-3):169-82. PubMed PMID: 10588370.
49. Kunisaki M, Bursell SE, Clermont AC, Ishii H, Ballas LM, Jirousek MR, et al. Vitamin E prevents diabetes-induced abnormal retinal blood flow via the diacylglycerol-protein kinase C pathway. The American journal of physiology. 1995 Aug;269(2 Pt 1):E239-46. PubMed PMID: 7653541.
50. An HJ, Franz AH, Lebrilla CB. Improved capillary electrophoretic separation and mass spectrometric detection of oligosaccharides. Journal of chromatography A. 2003 Jul 4;1004(1-2):121-9. PubMed PMID: 12929968.



51. Frank RN. Vascular endothelial growth factor--its role in retinal vascular proliferation. *The New England journal of medicine*. 1994 Dec 1;331(22):1519-20. PubMed PMID: 7526213.
52. A randomized trial of sorbinil, an aldose reductase inhibitor, in diabetic retinopathy. Sorbinil Retinopathy Trial Research Group. *Archives of ophthalmology*. 1990 Sep;108(9):1234-44. PubMed PMID: 2119168.
53. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Annals of internal medicine*. 1984 Oct;101(4):527-37. PubMed PMID: 6383165.
54. Hammes HP, Martin S, Federlin K, Geisen K, Brownlee M. Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1991 Dec 15;88(24):11555-8. PubMed PMID: 1763069. Pubmed Central PMCID: 53174.
55. Freedman BI, Wuerth JP, Cartwright K, Bain RP, Dippe S, Hershon K, et al. Design and baseline characteristics for the aminoguanidine Clinical Trial in Overt Type 2 Diabetic Nephropathy (ACTION II). *Controlled clinical trials*. 1999 Oct;20(5):493-510. PubMed PMID: 10503809.
56. Group P-DS. The effect of ruboxistaurin on visual loss in patients with moderately severe to very severe nonproliferative diabetic retinopathy: initial results of the Protein Kinase C beta Inhibitor Diabetic Retinopathy Study (PKC-DRS) multicenter randomized clinical trial. *Diabetes*. 2005 Jul;54(7):2188-97. PubMed PMID: 15983221.
57. Seo MS, Kwak N, Ozaki H, Yamada H, Okamoto N, Yamada E, et al. Dramatic inhibition of retinal and choroidal neovascularization by oral administration of a kinase inhibitor. *The American journal of pathology*. 1999 Jun;154(6):1743-53. PubMed PMID: 10362799. Pubmed Central PMCID: 1866636.

58. Campochiaro PA, Group CPS. Reduction of diabetic macular edema by oral administration of the kinase inhibitor PKC412. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2004 Mar;45(3):922-31. PubMed PMID: 14985312.
59. Bi W, Deng JM, Zhang Z, Behringer RR, de Crombrughe B. Sox9 is required for cartilage formation. *Nature genetics*. 1999 May;22(1):85-9. PubMed PMID: 10319868.
60. Gonzalez E, Bamshad M, Sato N, Mummidi S, Dhanda R, Catano G, et al. Race-specific HIV-1 disease-modifying effects associated with CCR5 haplotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999 Oct 12;96(21):12004-9. PubMed PMID: 10518566. Pubmed Central PMCID: 18402.
61. Jonas JB, Spandau UH, Kampeter BA, Vossmerbaeumer U, Harder B, Sauder G. Repeated intravitreal high-dosage injections of triamcinolone acetonide for diffuse diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2006 May;113(5):800-4. PubMed PMID: 16530840.
62. Sultan MB, Zhou D, Loftus J, Dombi T, Ice KS, Macugen Study G. A phase 2/3, multicenter, randomized, double-masked, 2-year trial of pegaptanib sodium for the treatment of diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2011 Jun;118(6):1107-18. PubMed PMID: 21529957.
63. Diabetic Retinopathy Clinical Research N, Scott IU, Edwards AR, Beck RW, Bressler NM, Chan CK, et al. A phase II randomized clinical trial of intravitreal bevacizumab for diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2007 Oct;114(10):1860-7. PubMed PMID: 17698196. Pubmed Central PMCID: 2245885.
64. Arevalo JF, Fromow-Guerra J, Quiroz-Mercado H, Sanchez JG, Wu L, Maia M, et al. Primary intravitreal bevacizumab (Avastin) for diabetic macular edema: results from the Pan-American Collaborative Retina Study Group at 6-month follow-up. *Ophthalmology*. 2007 Apr;114(4):743-50. PubMed PMID: 17398322.

65. Arevalo JF, Sanchez JG, Fromow-Guerra J, Wu L, Berrocal MH, Farah ME, et al. Comparison of two doses of primary intravitreal bevacizumab (Avastin) for diffuse diabetic macular edema: results from the Pan-American Collaborative Retina Study Group (PACORES) at 12-month follow-up. *Graefes archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*. 2009 Jun;247(6):735-43. PubMed PMID: 19189118.
66. Nguyen QD, Shah SM, Khwaja AA, Channa R, Hatef E, Do DV, et al. Two-year outcomes of the ranibizumab for edema of the macula in diabetes (READ-2) study. *Ophthalmology*. 2010 Nov;117(11):2146-51. PubMed PMID: 20855114.
67. Mitchell P, Bandello F, Schmidt-Erfurth U, Lang GE, Massin P, Schlingemann RO, et al. The RESTORE study: ranibizumab monotherapy or combined with laser versus laser monotherapy for diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2011 Apr;118(4):615-25. PubMed PMID: 21459215.
68. Day S, Acquah K, Mruthyunjaya P, Grossman DS, Lee PP, Sloan FA. Ocular complications after anti-vascular endothelial growth factor therapy in Medicare patients with age-related macular degeneration. *American journal of ophthalmology*. 2011 Aug;152(2):266-72. PubMed PMID: 21664593. Pubmed Central PMCID: 3143287.
69. Cleary CA, Sharaznayan D, Hickey-Dwyer M. Intravitreal anti-VEGF therapy for neovascular age-related macular degeneration and the risk of stroke. *Irish medical journal*. 2011 May;104(5):146-9. PubMed PMID: 21736091.
70. Ip MS, Gottlieb JL, Kahana A, Scott IU, Altaweel MM, Blodi BA, et al. Intravitreal triamcinolone for the treatment of macular edema associated with central retinal vein occlusion. *Archives of ophthalmology*. 2004 Aug;122(8):1131-6. PubMed PMID: 15302652.
71. Fluocinolone acetonide ophthalmic--Bausch & Lomb: fluocinolone acetonide Envision TD implant. *Drugs in R&D*. 2005;6(2):116-9. PubMed PMID: 15777105.

72. Haller JA, Kuppermann BD, Blumenkranz MS, Williams GA, Weinberg DV, Chou C, et al. Randomized controlled trial of an intravitreal dexamethasone drug delivery system in patients with diabetic macular edema. *Archives of ophthalmology*. 2010 Mar;128(3):289-96. PubMed PMID: 20212197.
73. Boyer DS, Faber D, Gupta S, Patel SS, Tabandeh H, Li XY, et al. Dexamethasone intravitreal implant for treatment of diabetic macular edema in vitrectomized patients. *Retina*. 2011 May;31(5):915-23. PubMed PMID: 21487341.
74. Stefansson E. The therapeutic effects of retinal laser treatment and vitrectomy. A theory based on oxygen and vascular physiology. *Acta ophthalmologica Scandinavica*. 2001 Oct;79(5):435-40. PubMed PMID: 11594975.
75. Gottfredsdottir MS, Stefansson E, Jonasson F, Gislason I. Retinal vasoconstriction after laser treatment for diabetic macular edema. *American journal of ophthalmology*. 1993 Jan;115(1):64-7. PubMed PMID: 8420380.
76. Bresnick GH. Diabetic maculopathy. A critical review highlighting diffuse macular edema. *Ophthalmology*. 1983 Nov;90(11):1301-17. PubMed PMID: 6664669.
77. Yoshimura N, Matsumoto M, Shimizu H, Mandai M, Hata Y, Ishibashi T. Photocoagulated human retinal pigment epithelial cells produce an inhibitor of vascular endothelial cell proliferation. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1995 Jul;36(8):1686-91. PubMed PMID: 7601648.
78. Focal photocoagulation treatment of diabetic macular edema. Relationship of treatment effect to fluorescein angiographic and other retinal characteristics at baseline: ETDRS report no. 19. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Archives of ophthalmology*. 1995 Sep;113(9):1144-55. PubMed PMID: 7661748.

79. Lee CM, Olk RJ. Modified grid laser photocoagulation for diffuse diabetic macular edema. Long-term visual results. *Ophthalmology*. 1991 Oct;98(10):1594-602. PubMed PMID: 1961650.
80. Olk RJ, Akduman L. Minimal intensity diode laser (810 nanometer) photocoagulation (MIP) for diffuse diabetic macular edema (DDME). *Seminars in ophthalmology*. 2001 Mar;16(1):25-30. PubMed PMID: 15487695.
81. Guyer DR, D'Amico DJ, Smith CW. Subretinal fibrosis after laser photocoagulation for diabetic macular edema. *American journal of ophthalmology*. 1992 Jun 15;113(6):652-6. PubMed PMID: 1376019.
82. Han DP, Mieler WF, Burton TC. Submacular fibrosis after photocoagulation for diabetic macular edema. *American journal of ophthalmology*. 1992 May 15;113(5):513-21. PubMed PMID: 1575225.
83. Luttrull JK, Musch DC, Mainster MA. Subthreshold diode micropulse photocoagulation for the treatment of clinically significant diabetic macular oedema. *The British journal of ophthalmology*. 2005 Jan;89(1):74-80. PubMed PMID: 15615751. Pubmed Central PMCID: 1772486.
84. Nakamura Y, Mitamura Y, Ogata K, Arai M, Takatsuna Y, Yamamoto S. Functional and morphological changes of macula after subthreshold micropulse diode laser photocoagulation for diabetic macular oedema. *Eye*. 2010 May;24(5):784-8. PubMed PMID: 19680274.
85. Sivaprasad S, Sandhu R, Tandon A, Sayed-Ahmed K, McHugh DA. Subthreshold micropulse diode laser photocoagulation for clinically significant diabetic macular oedema: a three-year follow up. *Clinical & experimental ophthalmology*. 2007 Sep-Oct;35(7):640-4. PubMed PMID: 17894684.
86. Vujosevic S, Bottega E, Casciano M, Pilotto E, Convento E, Midena E. Microperimetry and fundus autofluorescence in diabetic macular edema: subthreshold micropulse diode laser

versus modified early treatment diabetic retinopathy study laser photocoagulation. *Retina*. 2010 Jun;30(6):908-16. PubMed PMID: 20168272.

87. Lavinsky D, Cardillo JA, Melo LA, Jr., Dare A, Farah ME, Belfort R, Jr. Randomized clinical trial evaluating mETDRS versus normal or high-density micropulse photocoagulation for diabetic macular edema. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2011 Jun;52(7):4314-23. PubMed PMID: 21345996.

88. Muqit MM, Gray JC, Marcellino GR, Henson DB, Young LB, Patton N, et al. Barely visible 10-millisecond pascal laser photocoagulation for diabetic macular edema: observations of clinical effect and burn localization. *American journal of ophthalmology*. 2010 Jun;149(6):979-86 e2. PubMed PMID: 20510687.

89. Kozak I, Oster SF, Cortes MA, Dowell D, Hartmann K, Kim JS, et al. Clinical evaluation and treatment accuracy in diabetic macular edema using navigated laser photocoagulator NAVILAS. *Ophthalmology*. 2011 Jun;118(6):1119-24. PubMed PMID: 21269701.

90. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study design and baseline patient characteristics. ETDRS report number 7. *Ophthalmology*. 1991 May;98(5 Suppl):741-56. PubMed PMID: 2062510.

91. Early vitrectomy for severe vitreous hemorrhage in diabetic retinopathy. Two-year results of a randomized trial. Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study report 2. The Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Research Group. *Archives of ophthalmology*. 1985 Nov;103(11):1644-52. PubMed PMID: 2865943.

92. Flynn HW, Jr., Chew EY, Simons BD, Barton FB, Remaley NA, Ferris FL, 3rd. Pars plana vitrectomy in the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study. ETDRS report number 17. The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology*. 1992 Sep;99(9):1351-7. PubMed PMID: 1407968.

93. Machermer R, Buettner H, Norton EW, Parel JM. Vitrectomy: a pars plana approach. *Transactions - American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology*. 1971 Jul-Aug;75(4):813-20. PubMed PMID: 5566980.
94. Early vitrectomy for severe proliferative diabetic retinopathy in eyes with useful vision. *Clinical application of results of a randomized trial--Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Report 4*. The Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Research Group. *Ophthalmology*. 1988 Oct;95(10):1321-34. PubMed PMID: 2465518.
95. Gomez CR, Bhat MH, Chung HD. Homonymous quadrantic visual field defect resulting from vertebrobasilar insufficiency: report of a case. *Angiology*. 1990 Feb;41(2):151-5. PubMed PMID: 2306008.
96. Early vitrectomy for severe vitreous hemorrhage in diabetic retinopathy. Four-year results of a randomized trial: *Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Report 5*. *Archives of ophthalmology*. 1990 Jul;108(7):958-64. PubMed PMID: 2196036.
97. Rizzo S, Genovesi-Ebert F, Di Bartolo E, Vento A, Miniaci S, Williams G. Injection of intravitreal bevacizumab (Avastin) as a preoperative adjunct before vitrectomy surgery in the treatment of severe proliferative diabetic retinopathy (PDR). *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*. 2008 Jun;246(6):837-42. PubMed PMID: 18286296.
98. Arevalo JF, Maia M, Flynn HW, Jr., Saravia M, Avery RL, Wu L, et al. Tractional retinal detachment following intravitreal bevacizumab (Avastin) in patients with severe proliferative diabetic retinopathy. *The British journal of ophthalmology*. 2008 Feb;92(2):213-6. PubMed PMID: 17965108.
99. Ahmad I, Leinders-Zufall T, Kocsis JD. Retinal ganglion cells express a cGMP- gate cation concouctance activitable by nitric oxide donors. *Neuron* 1994;12:155-165.

100. Kroncke KD, Fehsel K, Kolb-Bachofen V. Inducible nitric oxide synthase and its product nitric oxide, a small molecule with complex biological activities. *Biological chemistry Hoppe-Seyler*. 1995 Jun;376(6):327-43. PubMed PMID: 7576227.
101. Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell*. 1994 Sep 23;78(6):915-8. PubMed PMID: 7522969.
102. Stamler JS. Redox signaling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide. *Cell*. 1994 Sep 23;78(6):931-6. PubMed PMID: 7923362.
103. Chakravarthy U, Stitt AW, McNally J, Bailie JR, Hoey EM, Duprex P. Nitric oxide synthase activity and expression in retinal capillary endothelial cells and pericytes. *Current eye research*. 1995 Apr;14(4):285-94. PubMed PMID: 7541741.
104. Becquet F, Courtois Y, Goureau O. Nitric oxide decreases in vitro phagocytosis of photoreceptor outer segments by bovine retinal pigmented epithelial cells. *Journal of cellular physiology*. 1994 May;159(2):256-62. PubMed PMID: 8163566.
105. Bader BL, Rayburn H, Crowley D, Hynes RO. Extensive vasculogenesis, angiogenesis, and organogenesis precede lethality in mice lacking all alpha v integrins. *Cell*. 1998 Nov 13;95(4):507-19. PubMed PMID: 9827803.
106. Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, Persico G. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. *Circulation*. 1996 Apr 15;93(8):1493-5. PubMed PMID: 8608615.
107. Siemeister G, Marme D, Martiny-Baron G. The alpha-helical domain near the amino terminus is essential for dimerization of vascular endothelial growth factor. *The Journal of biological chemistry*. 1998 May 1;273(18):11115-20. PubMed PMID: 9556597.
108. Takagi H, King GL, Robinson GS, Ferrara N, Aiello LP. Adenosine mediates hypoxic induction of vascular endothelial growth factor in retinal pericytes and endothelial cells.



Investigative ophthalmology & visual science. 1996 Oct;37(11):2165-76. PubMed PMID: 8843903.

109. Dibbens JA, Miller DL, Damert A, Risau W, Vadas MA, Goodall GJ. Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor mRNA stability requires the cooperation of multiple RNA elements. *Molecular biology of the cell*. 1999 Apr;10(4):907-19. PubMed PMID: 10198046. Pubmed Central PMCID: 25213.

110. Maeshima Y, Sudhakar A, Lively JC, Ueki K, Kharbanda S, Kahn CR, et al. Tumstatin, an endothelial cell-specific inhibitor of protein synthesis. *Science*. 2002 Jan 4;295(5552):140-3. PubMed PMID: 11778052.

111. Brooks PC, Silletti S, von Schalscha TL, Friedlander M, Cheresch DA. Disruption of angiogenesis by PEX, a noncatalytic metalloproteinase fragment with integrin binding activity. *Cell*. 1998 Feb 6;92(3):391-400. PubMed PMID: 9476898.

112. Hynes RO. A reevaluation of integrins as regulators of angiogenesis. *Nature medicine*. 2002 Sep;8(9):918-21. PubMed PMID: 12205444.

113. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Goto K, Masaki T. A novel peptide vasoconstrictor, endothelin, is produced by vascular endothelium and modulates smooth muscle Ca<sup>2+</sup> channels. *Journal of hypertension Supplement : official journal of the International Society of Hypertension*. 1988 Dec;6(4):S188-91. PubMed PMID: 2853725.

114. Lee ME, de la Monte SM, Ng SC, Bloch KD, Quertermous T. Expression of the potent vasoconstrictor endothelin in the human central nervous system. *The Journal of clinical investigation*. 1990 Jul;86(1):141-7. PubMed PMID: 2195059. Pubmed Central PMCID: 296701.

115. Plumpton C, Ashby MJ, Kuc RE, O'Reilly G, Davenport AP. Expression of endothelin peptides and mRNA in the human heart. *Clinical science*. 1996 Jan;90(1):37-46. PubMed PMID: 8697704.

116. Karet FE. Endothelin peptides and receptors in human kidney. *Clinical science*. 1996 Sep;91(3):267-73. PubMed PMID: 8869408.
117. Sugiyama T, Oku H, Moriya S, Shimizu K, Hamada J, Azuma I. [Effect of endothelin-1 on ocular circulation]. *Nippon Ganka Gakkai zasshi*. 1993 Jun;97(6):678-82. PubMed PMID: 8328334.
118. Wollensak G, Schaefer HE, Ihling C. An immunohistochemical study of endothelin-1 in the human eye. *Current eye research*. 1998 May;17(5):541-5. PubMed PMID: 9617550.
119. Baynash AG, Hosoda K, Giaid A, Richardson JA, Emoto N, Hammer RE, et al. Interaction of endothelin-3 with endothelin-B receptor is essential for development of epidermal melanocytes and enteric neurons. *Cell*. 1994 Dec 30;79(7):1277-85. PubMed PMID: 8001160.
120. Takuwa Y, Yanagisawa M, Takuwa N, Masaki T. Endothelin, its diverse biological activities and mechanisms of action. *Progress in growth factor research*. 1989;1(4):195-206. PubMed PMID: 2491262.
121. Wright CE, Fozard JR. Regional vasodilation is a prominent feature of the haemodynamic response to endothelin in anaesthetized, spontaneously hypertensive rats. *European journal of pharmacology*. 1988 Oct 11;155(1-2):201-3. PubMed PMID: 2907490.
122. Clouthier DE, Hosoda K, Richardson JA, Williams SC, Yanagisawa H, Kuwaki T, et al. Cranial and cardiac neural crest defects in endothelin-A receptor-deficient mice. *Development*. 1998 Mar;125(5):813-24. PubMed PMID: 9449664.
123. Clouthier DE, Williams SC, Yanagisawa H, Wieduwilt M, Richardson JA, Yanagisawa M. Signaling pathways crucial for craniofacial development revealed by endothelin-A receptor-deficient mice. *Developmental biology*. 2000 Jan 1;217(1):10-24. PubMed PMID: 10625532.
124. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyauchi T, Goto K, et al. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by

three separate genes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1989 Apr;86(8):2863-7. PubMed PMID: 2649896. Pubmed Central PMCID: 287019.

125. Yanagisawa M, Inoue A, Ishikawa T, Kasuya Y, Kimura S, Kumagaye S, et al. Primary structure, synthesis, and biological activity of rat endothelin, an endothelium-derived vasoconstrictor peptide. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1988 Sep;85(18):6964-7. PubMed PMID: 3045827. Pubmed Central PMCID: 282099.

126. Coca-Prados M, Escribano J, Ortego J. Differential gene expression in the human ciliary epithelium. Progress in retinal and eye research. 1999 May;18(3):403-29. PubMed PMID: 10192520.

127. Kido T, Sawamura T, Masaki T. The processing pathway of endothelin-1 production. Journal of cardiovascular pharmacology. 1998;31 Suppl 1:S13-5. PubMed PMID: 9595387.

128. Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, deWit D, et al. ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. Cell. 1994 Aug 12;78(3):473-85. PubMed PMID: 8062389.

129. Kitazumi K, Tasaka K. Thrombin-stimulated phosphorylation of myosin light chain and its possible involvement in endothelin-1 secretion from porcine aortic endothelial cells. Biochemical pharmacology. 1992 Apr 15;43(8):1701-9. PubMed PMID: 1575767.

130. Woods M, Mitchell JA, Wood EG, Barker S, Walcot NR, Rees GM, et al. Endothelin-1 is induced by cytokines in human vascular smooth muscle cells: evidence for intracellular endothelin-converting enzyme. Molecular pharmacology. 1999 May;55(5):902-9. PubMed PMID: 10220569.

131. Saijonmaa O, Ristimaki A, Fyhrquist F. Atrial natriuretic peptide, nitroglycerine, and nitroprusside reduce basal and stimulated endothelin production from cultured endothelial

- cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 1990 Dec 14;173(2):514-20. PubMed PMID: 2175599.
132. Wiley KE, Davenport AP. Nitric oxide-mediated modulation of the endothelin-1 signalling pathway in the human cardiovascular system. *British journal of pharmacology*. 2001 Jan;132(1):213-20. PubMed PMID: 11156580. Pubmed Central PMCID: 1572564.
133. Sakurai T, Yanagisawa M, Masaki T. Molecular characterization of endothelin receptors. *Trends in pharmacological sciences*. 1992 Mar;13(3):103-8. PubMed PMID: 1315462.
134. Marsault R, Feolde E, Frelin C. Receptor externalization determines sustained contractile responses to endothelin-1 in the rat aorta. *The American journal of physiology*. 1993 Mar;264(3 Pt 1):C687-93. PubMed PMID: 8096364.
135. Fukuroda T, Fujikawa T, Ozaki S, Ishikawa K, Yano M, Nishikibe M. Clearance of circulating endothelin-1 by ETB receptors in rats. *Biochemical and biophysical research communications*. 1994 Mar 30;199(3):1461-5. PubMed PMID: 8147891.
136. MacCumber MW, D'Anna SA. Endothelin receptor-binding subtypes in the human retina and choroid. *Archives of ophthalmology*. 1994 Sep;112(9):1231-5. PubMed PMID: 8085966.
137. Stahl F, Gebauer B, Lepple-Wienhues A, Langenbeck-Groh G, Berweck S, Wiederholt M. Characterization of acetylcholine- and endothelin-induced calcium entry in cultured human ciliary muscle cells. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*. 1992 Nov;422(2):105-11. PubMed PMID: 1488271.
138. Tao W, Prasanna G, Dimitrijevic S, Yorio T. Endothelin receptor A is expressed and mediates the  $[Ca^{2+}]_i$  mobilization of cells in human ciliary smooth muscle, ciliary nonpigmented epithelium, and trabecular meshwork. *Current eye research*. 1998 Jan;17(1):31-8. PubMed PMID: 9472468.

139. Satoh M, Yamamoto Y, Takayanagi I. Characterization of endothelin receptor subtypes mediating Ca<sup>2+</sup> mobilization and contractile response in rabbit iris dilator muscle. *British journal of pharmacology*. 1996 Mar;117(6):1277-85. PubMed PMID: 8882626. Pubmed Central PMCID: 1909808.
140. Takagi H, Reinach PS, Tachado SD, Yoshimura N. Endothelin-mediated cell signaling and proliferation in cultured rabbit corneal epithelial cells. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1994 Jan;35(1):134-42. PubMed PMID: 8300340.
141. Prasanna G, Krishnamoorthy R, Clark AF, Wordinger RJ, Yorio T. Human optic nerve head astrocytes as a target for endothelin-1. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2002 Aug;43(8):2704-13. PubMed PMID: 12147606.
142. Ramachandran E, Frank RN, Kennedy A. Effects of endothelin on cultured bovine retinal microvascular pericytes. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1993 Mar;34(3):586-95. PubMed PMID: 8449678.
143. Benjamin LE. Glucose, VEGF-A, and diabetic complications. *The American journal of pathology*. 2001 Apr;158(4):1181-4. PubMed PMID: 11290533. Pubmed Central PMCID: 1891912.
144. Lisciandrano D, Benti R, Ranzi T, Baldassarri AR, Bruno A, Bianchi PA, et al. Scintigraphic imaging and absorption of a 5-aminosalicylic acid enema in patients with ileorectal anastomosis. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 1999 Oct;40(10):1630-6. PubMed PMID: 10520702.
145. Hood JD, Meininger CJ, Ziche M, Granger HJ. VEGF upregulates ecNOS message, protein, and NO production in human endothelial cells. *The American journal of physiology*. 1998 Mar;274(3 Pt 2):H1054-8. PubMed PMID: 9530221.

146. Cha DR, Kang YS, Han SY, Jee YH, Han KH, Han JY, et al. Vascular endothelial growth factor is increased during early stage of diabetic nephropathy in type II diabetic rats. *The Journal of endocrinology*. 2004 Oct;183(1):183-94. PubMed PMID: 15525586.
147. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *The New England journal of medicine*. 1994 Dec 1;331(22):1480-7. PubMed PMID: 7526212.
148. Spilsbury K, Garrett KL, Shen WY, Constable IJ, Rakoczy PE. Overexpression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the retinal pigment epithelium leads to the development of choroidal neovascularization. *The American journal of pathology*. 2000 Jul;157(1):135-44. PubMed PMID: 10880384. Pubmed Central PMCID: 1850220.
149. Marsh SG. Nomenclature for factors of the HLA system, update February 2000. WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System. *Tissue antigens*. 2000 Jun;55(6):571-2. PubMed PMID: 10902614.
150. Murata T, Ishibashi T, Khalil A, Hata Y, Yoshikawa H, Inomata H. Vascular endothelial growth factor plays a role in hyperpermeability of diabetic retinal vessels. *Ophthalmic research*. 1995;27(1):48-52. PubMed PMID: 7596559.
151. Ozaki H, Seo MS, Ozaki K, Yamada H, Yamada E, Okamoto N, et al. Blockade of vascular endothelial cell growth factor receptor signaling is sufficient to completely prevent retinal neovascularization. *The American journal of pathology*. 2000 Feb;156(2):697-707. PubMed PMID: 10666398. Pubmed Central PMCID: 1850054.
152. Robinson GS, Pierce EA, Rook SL, Foley E, Webb R, Smith LE. Oligodeoxynucleotides inhibit retinal neovascularization in a murine model of proliferative retinopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996 May 14;93(10):4851-6. PubMed PMID: 8643492. Pubmed Central PMCID: 39368.

153. Hogeboom van Buggenum IM, Polak BC, Reichert-Thoen JW, de Vries-Knoppert WA, van Hinsbergh VW, Tangelder GJ. Angiotensin converting enzyme inhibiting therapy is associated with lower vitreous vascular endothelial growth factor concentrations in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 2002 Feb;45(2):203-9. PubMed PMID: 11935151.
154. Abu El-Asrar AM, Nawaz MI, Kangave D, Mairaj Siddiquei M, Geboes K. Angiogenic and vasculogenic factors in the vitreous from patients with proliferative diabetic retinopathy. *Journal of diabetes research*. 2013;2013:539658. PubMed PMID: 23671874. Pubmed Central PMCID: 3647558.
155. Baharivand N, Zarghami N, Panahi F, Dokht Ghafari MY, Mahdavi Fard A, Mohajeri A. Relationship between vitreous and serum vascular endothelial growth factor levels, control of diabetes and microalbuminuria in proliferative diabetic retinopathy. *Clinical ophthalmology*. 2012;6:185-91. PubMed PMID: 22331976. Pubmed Central PMCID: 3273407.
156. Koleva-Georgieva DN, Sivkova NP, Terzieva D. Serum inflammatory cytokines IL-1beta, IL-6, TNF-alpha and VEGF have influence on the development of diabetic retinopathy. *Folia medica*. 2011 Apr-Jun;53(2):44-50. PubMed PMID: 21797106.
157. Xu W, Wang HY, Zhao XH, Wang PJ. [Values of ocular hemodynamics and serum endothelin-1 in the early diagnosis of diabetic retinopathy]. *Zhonghua yi xue za zhi*. 2013 Jan 1;93(1):37-40. PubMed PMID: 23578452.
158. O'Brien SN, Blijlevens NM, Mahfouz TH, Anaissie EJ. Infections in patients with hematological cancer: recent developments. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2003:438-72. PubMed PMID: 14633794.
159. Roldan-Pallares M, Rollin R, Martinez-Montero JC, Fernandez-Cruz A, Bravo-Llata C, Fernandez-Durango R. Immunoreactive endothelin-1 in the vitreous humor and epiretinal

membranes of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Retina*. 2007 Feb;27(2):222-35. PubMed PMID: 17290206.

160. Yokota T, Ma RC, Park JY, Isshiki K, Sotiropoulos KB, Rauniyar RK, et al. Role of protein kinase C on the expression of platelet-derived growth factor and endothelin-1 in the retina of diabetic rats and cultured retinal capillary pericytes. *Diabetes*. 2003 Mar;52(3):838-45. PubMed PMID: 12606528.

161. Albrecht EW, Stegeman CA, Heeringa P, Henning RH, van Goor H. Protective role of endothelial nitric oxide synthase. *The Journal of pathology*. 2003 Jan;199(1):8-17. PubMed PMID: 12474221.

162. Gross SS, Wolin MS. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annual review of physiology*. 1995;57:737-69. PubMed PMID: 7539995.

163. do Carmo A, Lopes C, Santos M, Proenca R, Cunha-Vaz J, Carvalho AP. Nitric oxide synthase activity and L-arginine metabolism in the retinas from streptozotocin-induced diabetic rats. *General pharmacology*. 1998 Mar;30(3):319-24. PubMed PMID: 9510080.

164. Hattenbach LO, Allers A, Klais C, Koch F, Hecker M. L-Arginine-nitric oxide pathway-related metabolites in the aqueous humor of diabetic patients. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2000 Jan;41(1):213-7. PubMed PMID: 10634623.

165. Schmetterer L, Findl O, Fasching P, Ferber W, Strenn K, Breiteneder H, et al. Nitric oxide and ocular blood flow in patients with IDDM. *Diabetes*. 1997 Apr;46(4):653-8. PubMed PMID: 9075807.

166. Yilmaz G, Esser P, Kociok N, Aydin P, Heimann K. Elevated vitreous nitric oxide levels in patients with proliferative diabetic retinopathy. *American journal of ophthalmology*. 2000 Jul;130(1):87-90. PubMed PMID: 11004264.



167. Fraquelli M, Bardella MT, Peracchi M, Cesana BM, Bianchi PA, Conte D. Gallbladder emptying and somatostatin and cholecystokinin plasma levels in celiac disease. *The American journal of gastroenterology*. 1999 Jul;94(7):1866-70. PubMed PMID: 10406250.
168. Ozden S, Tatlipinar S, Bicer N, Yaylali V, Yildirim C, Ozbay D, et al. Basal serum nitric oxide levels in patients with type 2 diabetes mellitus and different stages of retinopathy. *Canadian journal of ophthalmology Journal canadien d'ophtalmologie*. 2003 Aug;38(5):393-6. PubMed PMID: 12956281.
169. Doganay S, Evreklioglu C, Er H, Turkoz Y, Sevinc A, Mehmet N, et al. Comparison of serum NO, TNF-alpha, IL-1beta, sIL-2R, IL-6 and IL-8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus. *Eye*. 2002 Mar;16(2):163-70. PubMed PMID: 11988817.
170. Izumi N, Nagaoka T, Mori F, Sato E, Takahashi A, Yoshida A. Relation between plasma nitric oxide levels and diabetic retinopathy. *Japanese journal of ophthalmology*. 2006 Sep-Oct;50(5):465-8. PubMed PMID: 17013701.

## **ÖZGEÇMİŞ**

24.10.1983 Karaman doğumluyum. İlkokulu 1990-1995 yılları arasında Güneyyurt İlkokulu'nda okudum. Ortaokul eğitimimi 1995-1998 yılları arasında Karaman Bifa Ortaokulu'nda, lise eğitimimi 1998-2001 yılları arasında Karaman Lisesi'nde tamamladım. 2001 yılında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başladım ve 2007 yılında mezun oldum. 5 Aralık 2008'de Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları A.D.'da araştırma görevlisi doktor olarak çalışmaya başlamış olup halen burada görevime devam etmekteyim. Evli ve 1 çocuk annesiyim.

**Hilal KAHRAMAN**